Aus der I. Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses
Berlin - Neukölln
(Ärztl. Direktor: Professor Dr. K. H O L L D A C K)
und
dem Institut für Haematologie der Gesellschaft für Strahlenforschung, Assoziation mit EURATOM, München
(Direktor: Professor Dr. W. S T I C H)

DIE REGENERATION DER GRANULOPOSE BEI UNREIFZELLIGER LEUKOSE IN VITRO

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den
Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Elsäßer, Hermann
aus Geislingen

1971

Aus der I. Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses
Berlin - Neukölln
(Ärztl. Direktor: Professor Dr. K. H O L L D A C K)
und
dem Institut für Haematologie der Gesellschaft für Strahlenforschung, Assoziation mit EURATOM, München
(Direktor: Professor Dr. W. S T I C H)

DIE REGENERATION DER GRANULOPOSE BEI UNREIFZELLIGER LEUKOSE IN VITRO

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den
Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Elsäßer, Hermann
aus Geislingen

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Referent: Professor Dr. med. Irene Boll
Korreferent: Professor Dr. med. Horst Brücher

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 9. März 1971

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

		Seite
I.	Fragestellung	3
II.	Methode	5
III.	Ergebnisse	9
IV.	Diskussion	55
V.	Zusammenfassung	58
VI.	Literatur	59

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547205_0109

I. Fragestellung

Unter "Leukämie" verstand VIRCHOW eine nicht reaktive, eigengesetzliche Vermehrung der Leukozyten im Blut, die von Pyämien scharf getrennt werden muß. Heute besagt Leukämie oder besser Leukose, daß eine irreversible Wucherung der Leukopoese im Knochenmark und in extraossären Blutbildungsstätten vorliegt (HEILMEYER und BEGEMANN). Damit ist nicht gesagt, ob es sich um eine Systemerkrankung oder um einen Tumor handelt. Morphologisch unterscheidet man myeloische und lymphatische Leukosen. Die Leukose kann mit (leukämische Form) oder ohne (aleukämische Form) Vermehrung der Leukozyten im Blut einhergehen. Der Verlauf, das klinische Bild und das Myelogramm zeigen, ob die akute oder die chronische Form vorliegt. Die Mehrzahl der Fälle chronischer Leukosen geht final in die akute Form über (HEILMEYER). Die Zeitspanne, innerhalb der akute Leukosen zum Tod führen, erstreckt sich von wenigen Wochen bis über ein Jahr. Andererseits bezeichnet man eine Krankheitsdauer von einem Jahr nicht als akut. Deswegen nennt man aufgrund des Myelogramms, das vorwiegend unreife Leukosezellen zeigt, die akute Leukämie heute besser unreifzellige Leukose. Die unreifen Leukosezellen ähneln Myeloblasten und heißen ihrer morphologischen Abweichung wegen seit NAEGELI Paramyeloblasten. Wenn nicht feststeht, ob sie myeloischen oder lymphatischen Ursprungs sind, spricht man besser von Paraleukoblasten (HEGGLIN; SALOMONSEN, cit. nach FANCONI, G. und A. WALLGREN).
Im normalen Knochenmark finden wir keine unreifen Leukosezellen, sondern nur die normale Myelopoese. Im Gegensatz dazu zeigt sich im Knochenmark bei unreifzelliger Leukose, daß die unreifen Leukosezellen normale Knochenmarkszellen verdrängen.
Wie oft bestätigt wurde (SALERA und TAMBURINO, ROHR, ASTALDI und MAURI, SCHULZ), ist der Mitoseindex im normalen Knochenmark im Vergleich zum Mitoseindex im leukotischen Knochenmark nicht erniedrigt; außerdem zeigt BOLL, daß normales Knochenmark in vitro anfangs einen erhöhten Mitoseindex aufweist.

Angesichts dieser Fakten ergeben sich folgende, dieser Arbeit zugrunde liegenden Fragen:
Findet sich bei unreifzelligen Leukosen in vitro eine Erniedrigung des Mitoseindexes, wie sie in vivo festgestellt wurde?
Regenerieren Paraleukoblasten also in Kultur wie normale Granuloblasten?
Lassen sich aus der Mitosephasenverteilung Rückschlüsse auf die Proliferation ziehen, weicht sie von der normaler Granuloblasten ab?
Bisher haben nur SALERA und TAMBURINO an Knochenmarkkulturen unreifzelliger Leukosen die Mitoseindices angegeben, allerdings nur nach Stunden.
Daher bot sich die Aufgabe, bei Patienten mit unreifzelliger Leukose Mitoseindex und Phasenverteilung in vivo und in vitro zu untersuchen und miteinander zu vergleichen.

II. Methode

Das durch Sternalpunktion gewonnene Knochenmark wird in der modifizierten Deckglasmethode (BOLL und FUCHS) auf ein Gerinnsel von Nativ-Humanplasma desselben Patienten mit Zusatz von Hank's Lösung und "Corhormon" als Wachstumssubstanz kultiviert. Bis zur Fixierung werden die Kulturen bei 37°C bebrütet. Ausstriche von frischem oder kultiviertem Knochenmark werden fixiert und nach der Methode von PAPPENHEIM (MAY-GRÜNWALD-GIEMSA) gefärbt.

Auswertung der Präparate:

Mit der Lupe orientiert man sich über den Zellgehalt und differenziert mit der Ölimersionsvergrößerung gute und gleichmäßig gefärbte Stellen. Zweckmäßig wandert das Bild in Mäanderform. In jedem Präparat werden 1 000 Zellen der Granulopoese ausgezählt und der Mitoseindex, das heißt, die auf die teilungsfähigen Zellen entfallenden Mitosen bestimmt - und zwar zu gleichen Teilen aus der Mitte und den Randgebieten des Präparats, vorausgesetzt, daß es sich um gute und gleichmäßig gefärbte Stellen handelt.
Darüber hinaus werden möglichst 50 Mitosen aufgesucht - besonders in den Randgebieten beziehungsweise Emigrationszonen, da hier mehr Mitosen als in der Mitte des Präparats aufgefunden werden - und nach Phasen registriert.

Zellarten:

Als Myeloblast (Hämozytoblast nach FERRATA, Neutrophiloblast nach UNDRITZ, cit. n. ROHR) bezeichnete NAEGELI die ungranulierte Stammzelle der Leukozyten. Der Durchmesser beträgt etwa 15 μ, kleinere und größere Zellen bezeichnet man als pathologisch. Der Kern ist rund, selten leicht eingedellt und füllt die Zelle weitgehend aus: nur ein schmaler, schwach basophiler Plasmasaum ist sichtbar. Die Kernstruktur ist netzförmig, deutlich gezeichnet, selten existieren ein oder drei, meist aber

zwei schwach begrenzte Nukleolen. Die Peroxydasereaktion ist negativ. Eine sichere Abgrenzung gegenüber anderen undifferenzierten Zellen ist praktisch nicht möglich (ROHR). FERRATA schreibt "seinem" Hämozytoblasten erythroblastische Stammzellfunktion zu. LAMBIN zählt granulafreie, jedoch peroxydasepositive Myeloblasten zu den Hämozytoblasten. UNDRITZ unterscheidet Neutro-, Eosino- und Basophiloblasten.
Die Myeloblasten unserer Versuchsserie haben keine azurophilen Granula. Dabei wissen wir nicht, ob unsere Myeloblasten peroxydasepositiv oder -negativ sind, da das GIEMSA-Präparat darüber nichts aussagt.
Der Promyelozyt ist eine wesentlich größere Zelle mit größerem Kern und azurophiler Granulation in basophilem Zytoplasma. Die Kernstruktur ist noch fein, die Nukleolen auffallend groß. Diese Zelle entspricht dem Leukoblasten nach LIMARZI (cit. n. ROHR); OSGOOD nennt sie Progranulozyt.
Der unreife Myelozyt hat einen noch feiner strukturierten Kern als der Promyelozyt, bohnenförmig bis rund, und hat meist einen Nukleolus; das Cytoplasma ist noch basophil, die Granulation grobkörnig und intensiv azurophil.
Der halbreife Myelozyt ist kleiner, hat gröbere Chromatinstruktur, das Plasma ist oxyphil, man sieht eine spezifische Granulation.
Der reife Myelozyt hat oxyphiles Plasma, spezifische Granulation; der Kern ist kleiner, rundlich, hat ein dichtes Chromatingerüst. Zwischen dem unreifen und dem halbreifen Myelozyten findet die Differenzierung in eosino-, neutro- und basophile Myelozyten statt.
Der Metamyelozyt hat einen eingebuchteten Kern, eine dichte Chromatinstruktur und ein oxyphiles Plasma.
Stabkernige und segmentkernige Granulozyten haben einen stabförmigen beziehungsweise segmentierten Kern. Als Stabkernige wurden alle Granulozyten gezählt, die keine Kernverschmälerung auf mindestens ein Drittel hatten; die anderen wurden als Segmentkernige bezeichnet. Diese Angaben über die granulopoetischen Vorstufen sind größtenteils dem Buch von K. ROHR: Das menschliche Knochenmark, entnommen. Damit stimmt die Zelldiagnostik

überein, die dieser Untersuchung zugrunde liegt, mit der Ausnahme des unreifen Myelozyten, den wir wegen seiner Granulation noch zu den Promyelozyten zählen, des halbreifen und reifen Myelozyten, zwischen denen keine Unterschiede gemacht werden.

Paraleukoblasten zeichnen sich zwar durch Atypien an Nukleus und Zytoplasma aus, sind aber von normalen Myeloblasten morphologisch nicht eindeutig zu unterscheiden; deshalb werden in dieser Untersuchung formal Myeloblasten und Paraleukoblasten als eine Fraktion behandelt (entsprechend gilt dies für die reiferen teilungsfähigen Zellen der Granulopoese).
Mikromyeloblasten wurden in der Auszählung zwar beobachtet, aber nie in Mitose vorgefunden und nicht beim Mitoseindex mit aufgeführt.

Mitosephasen:

BOLL unterscheidet im fixierten Präparat:

Prophase	: (= festes Spirem), Auflockerung der Kernsubstanz bei aufgelöster Kernmembran und Fehlen des Nukleolus.
Frühe Metaphase	: (= lockeres Spirem), Zerstreuung der Chromosomen über die Zelle.
Späte Metaphase	: (= Monaster bzw. Äquatorialplatte), Anordnung der Chromosomen zum Stern.
Anaphase	: (= Diaster), Verlagerung der Chromosomenplatten in Richtung der Spindelpole bei ovaler Zelle.
Telophase	: (= lockeres Dispirem), Durchschnürung des Zellplasmas.
Rekonstruktionsphase:	(= festes Dispirem), nebeneinander zwei identische Zellen noch ohne Kernmembran und Nukleolen.

Mitosefiguren werden bei Myeloblasten, Promyelozyten, Myelozyten und Metamyelozyten beobachtet. Der Metamyelozyt, obwohl als teilungsfähig angesprochen, wurde hier nie in Mitose vorgefunden. Dazu bemerken wir: Der Myelozyt hat eine spezifische Granulation, die aber - geht die Zelle in Mitose - in den

Hintergrund tritt hinsichtlich ihrer Diagnostizierbarkeit. Der Metamyelozyt hat dieselbe spezifische Granulation wie der Myelozyt, aber einen eingebuchteten Kern. Bevor die Zellen in Mitose gehen, runden sie sich ab, das heißt: Kern und Cytoplasma. Die Größenabnahme in Mitose macht vollends eine Unterscheidung zwischen Myelozyt und Metamyelozyt unmöglich. Da also die Kriterien, Myelozyt und Metamyelozyt in Mitose eindeutig zu unterscheiden, fehlen, finden sich bei den folgenden Ergebnissen nur Angaben über Myeloblasten-, Promyelozyten- und Myelozytenmitosen.

III. Ergebnisse

Diese Ergebnisse gliedern sich in

Klinische Daten der elf Spender der Knochenmarkproben,
Tabellen über die Mitoseindices der Knochenmarkkulturen
(Tab. 1, 3, 5, 7 ... 27),
Graphische Darstellungen der Mitoseindices
(Abb. 1, 3, 5, 7 ... 27),
Tabellen über die Mitosephasenverteilung der Knochenmarkkulturen (Tab. 2, 4, 6, 8 ... 28),
Karyologische Histogramme
(Abb. 2, 4, 6, 8 ... 28),

und in

Tabellen und Kurven der Durchschnittswerte der Mitoseindices aller Versuche (Tab. 29, 30; Abb. 29, 30),
Tabellen und Kurven der Durchschnittsmitosephasenverteilung aller Knochenmarkkulturen (Tab. 31, 32; Abb. 31, 32),
Karyologische Kurven in Vergleichen mit anderen Autoren
(Tab. 33; Abb. 33 - 38).

I[1)]

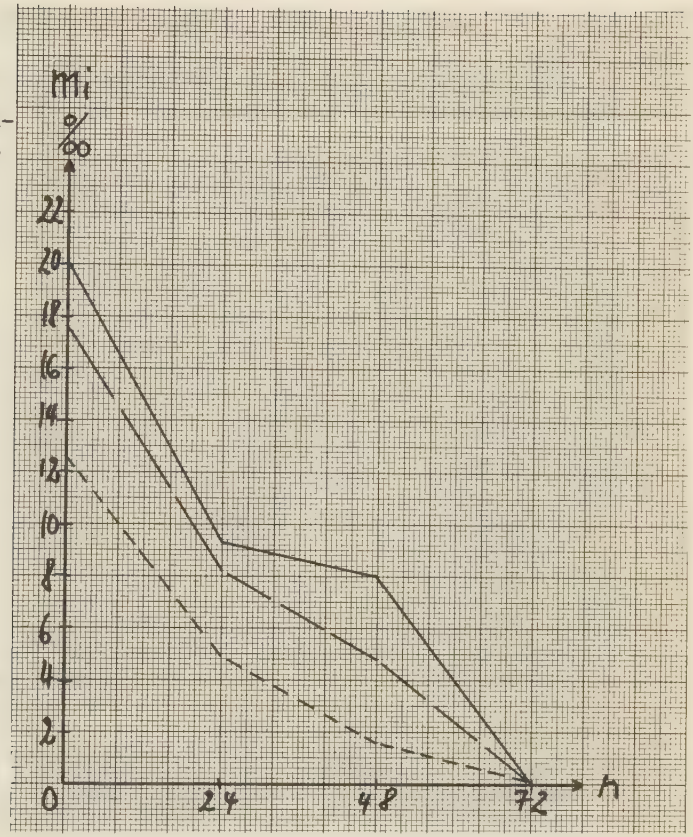
Auguste K., 74 Jahre; bei stationärer Aufnahme bestanden starkes Nasenbluten, Schwäche, Belastungsdyspnoe, Schlaflosigkeit und Gewichtsabnahme.
Erste Untersuchungsdaten: Ery.: 2,04 x 10^6/cmm; Hb: 7,8 g%; Leuko.: 5000/cmm; Thrombo.: 84000/cmm; BSG: 29/60 mm/h.
Diagnose: unreifzellige Leukose.
Therapie: vor der ersten Sternalpunktion (cf. Tab. 1 und 2, Abb. 1 und 2) keine spezifische; vor der zweiten Sternalpunktion (cf. Tab. 3 und 4, Abb. 3 und 4): Bluttransfusionen, 32 Tage Prednison, 14 Tage 6-Mercapto-purin.
Kurzer Verlauf: Ulcus an der Oberlippe, Leber- und Milzrand palpabel, Bronchopneumonie, Verschlechterung des AZ, Blutungen im Pharynx, Mundsoor.
Exitus letalis bei subduralen Blutungen und Bronchopneumonie. Die Obduktion bestätigte die klinische Diagnose 53 Tage nach Bekanntwerden der unreifzelligen Leukose.

Tab. 1[2)]: Mitoseindex der ersten Kultur

	0 h			24 h			48 h			72 h		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
L	3	2	1									
M	4	1		1	1				1			
N	2		1	3		1		2	1			
O	1	1					1					
P				1								
Q					1							
R	476	220	103	408	328	122	255	180	190	-	-	-
‰	12,5	5,0	2,5	5,9	2,3	1,1	1,6	3,2	3,2			
MI-‰		20,0			9,3			8,0			-	
SM-‰	21,0	18,2	19,4	12,2	6,1	8,2	3,9	11,1	10,5	-	-	-

1) I entspricht dem ersten Patienten, II dem zweiten, usw.
2) 0 h = Präparat aus frisch entnommenem Knochenmark
24 h = Präparat aus einem 24 h kultivierten Knochenmark (sinngemäß bei 48 bzw. 72 h)
A = Myeloblast und Paraleukoblast
B = Promyelozyt bzw. dessen pathologische Form
C = Myelozyt bzw. dessen pathologische Form

Abb. 1[3)]
Graphische Darstellung des Mitoseindexes der ersten Kultur



L = Prophase
M = frühe Metaphase
N = späte Metaphase
O = Anaphase
P = Telophase
Q = Rekonstruktionsphase
R = Absolutzahl derjenigen Zellart, auf die sich die Absolutzahlen der Mitosephasen der entsprechenden Zellart beziehen.
‰ = Mitosen auf 1000 teilungsfähige Zellen
MI-‰ = Mitoseindex in ‰ zu einem bestimmten Zeitquerschnitt
SM-‰ = relativer Anteil der in Mitose befindlichen Zellen je Zellart in ‰.

Die Zahlen von L - Q bedeuten Absolutzahlen.

3) Die Abszisse stellt den Mitoseindex in ‰ dar, die Ordinate die Zeit in Stunden.

Tab. 2[4]: Mitosephasenverteilung der ersten Kultur

	0 h			24 h			48 h			72 h		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
L	16	10	2	2		2			6			
M	18	8		24	12	6		20	12			
N	26	2	2	16	12	8	10	26	14			33,3
O	12	2		6	2		4	2			66,6	
P	2			2		2		6				
Q					4	2						
%		100			100			100			100	
S		50			50			50			3	

---------- = A
—— —— —— —— = A + B
———————— = A + B + C

Erklärung von A, B und C siehe Anmerkung 2), Seite 10

Der Mitoseindex von B ist z.B. nur die Höhe von A bis A + B. A + B + C zusammen stellen den Mitoseindex zu einem bestimmten Zeitpunkt dar. Um die graphische Darstellung ablesbar zu machen, wurden A von 0, 24, 48 und 72 h verbunden (sinngemäß A + B und A + B + C).

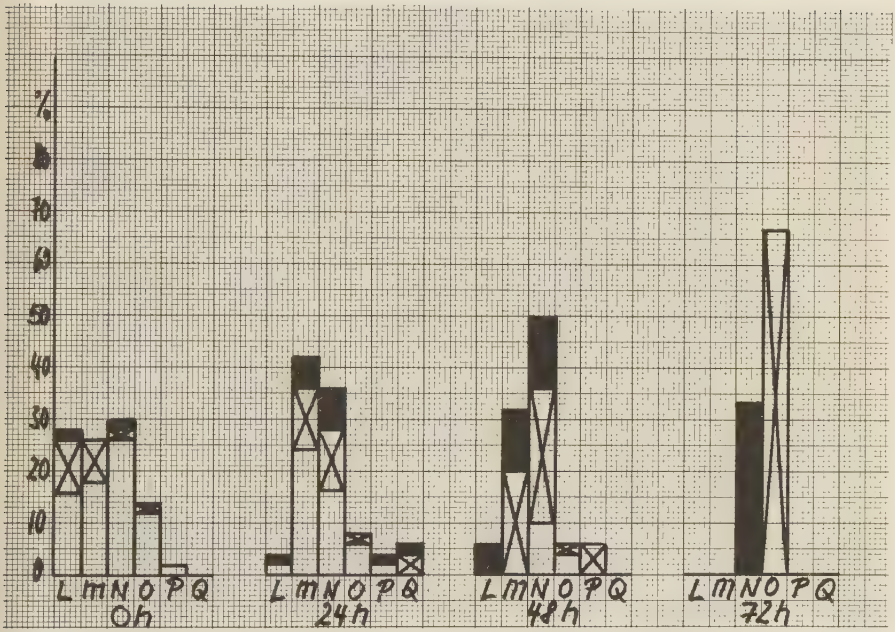
4) Erklärung der Abkürzungen siehe Anmerkung 2), Seite 10 f.
S = die Anzahl der in Mitose befindlichen Zellen bei Untersuchung der Phasenverteilung (möglichst 50 Mitosen wurden aufgesucht)
Hier in der Tabelle über Mitosephasenverteilung bedeuten L - Q Relativzahlen, die zusammen 100 % ergeben, die sich auf die Absolutzahlen der Mitosen S beziehen.

5) (siehe Abb. 2, Seite 13)
Das karyologische Histogramm zeigt die Mitosephasenverteilung graphisch. Es stellt die einzelnen Mitosephasen als Kolumnen dar, bei denen sich die der einzelnen Zellarten addieren.
Dabei bedeuten
leeres Feld = A
gekreuztes Feld = B
schwarzes Feld = C

Erklärung von A, B und C siehe Anmerkung 2), Seite 10

L - Q cf. Anmerkung 2), Seite 11 und Anmerkung 4), Seite 12

Abb. 2[5]: Karyologisches Histogramm der ersten Kultur

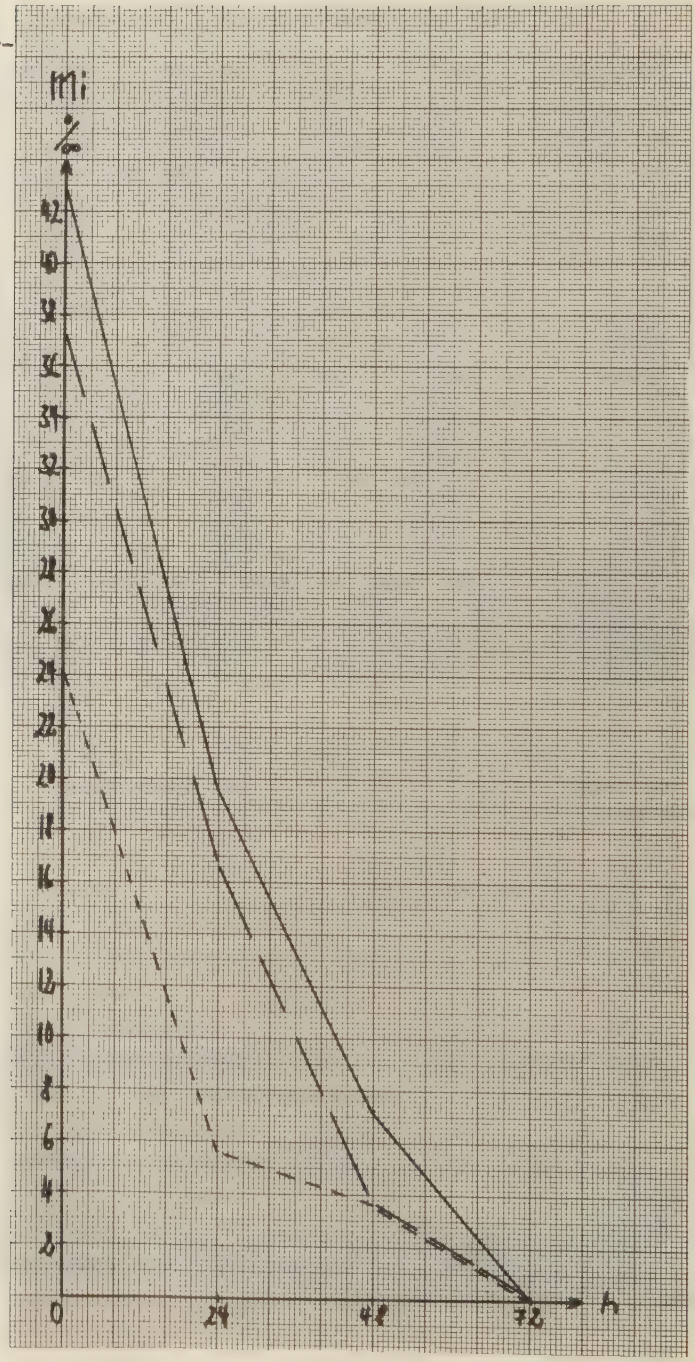


Tab. 3: Mitoseindex der zweiten Kultur[6]

	0 h			24 h			48 h			72 h		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
L	3	2		1	2	1	1		1			
M	5	3	2	2	4	1			1			
N	3	1		1	2							
O	2	1	1				1					
P												
Q												
R	254	67	218	316	244	177	172	194	180	133	113	273
‰	24,1	13,0	5,6	5,6	11,2	2,7	3,6	0	3,6			
MI-‰		42,7			19,5			7,2			0	
SM-‰	51,1	104,4	13,7	12,6	32,8	11,3	11,6	0	11,1	0	0	0

5) siehe Seite 12
6) Wie den klinischen Daten Seite 10 zu entnehmen ist, wurden bei der ersten Patientin zwei Sternalpunktionen durchgeführt und somit zwei Kulturen untersucht.

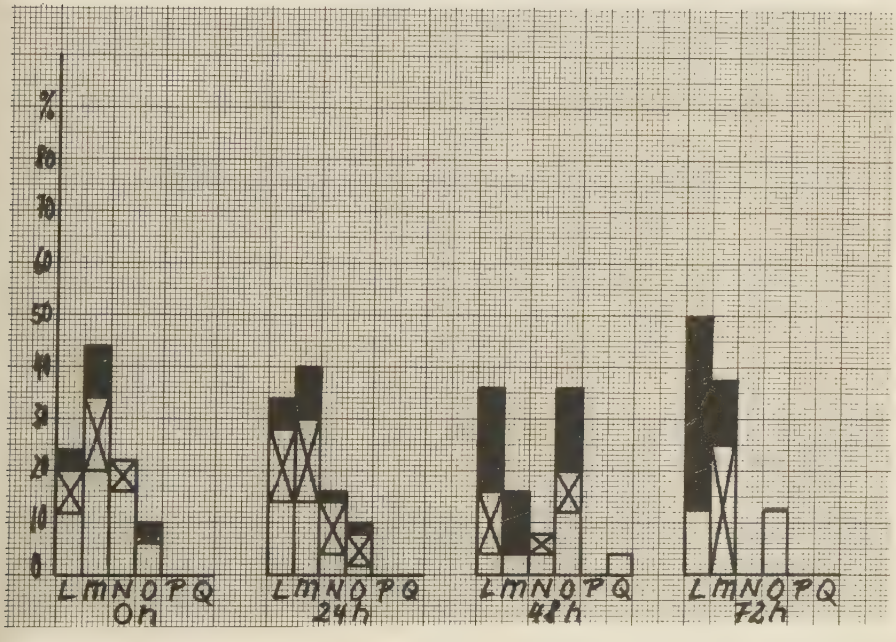
Abb. 3:
Graphische Darstellung des Mitoseindexes der zweiten Kultur



Tab. 4: Mitosephasenverteilung der zweiten Kultur

	0 h			24 h			48 h			72 h		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
L	12	8	4	14	14	6	4	12	20	12,5		37,5
M	20	14	10	14	16	10	4		12		25	12,5
N	16	6		4	10	2	4	4				
O	6	2	2	2	6	2	12	8	16	12,5		
P												
Q							4					
%		100			100			100			100	
S		50			50			25			8	

Abb. 4: Karyologisches Histogramm der zweiten Kultur



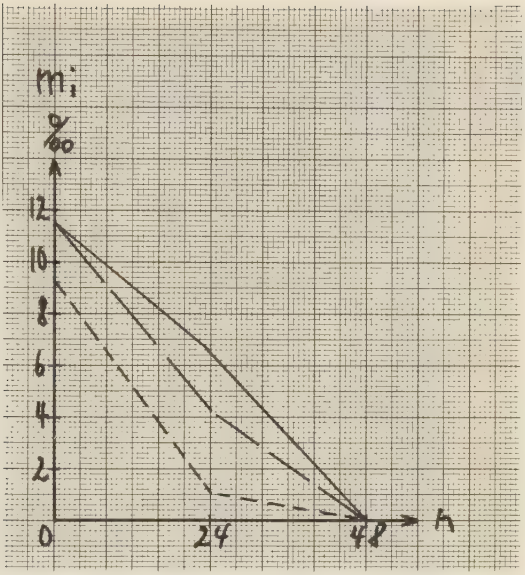
II

Erna P., 61 Jahre; bei stationärer Aufnahme bestanden starkes Bluten nach Bagatellverletzungen, spontanes Auftreten von Hämatomen an Armen und Beinen seit fünf Monaten und schlechter Appetit.
Erste Untersuchungsdaten: Ery.: 2,27 x 10^6/cmm; Hb: 8,8 g%; Leuko.: 1250/cmm; Thrombo.: 50000/cmm; BSG: 62/112 mm/h.
Diagnose: unreifzellige Leukose.
Therapie: vor der ersten Sternalpunktion (cf. Tab. 5 und 6, Abb. 5 und 6) keine spezifische; vor der zweiten Sternalpunktion (cf. Tab. 7 und 8, Abb. 7 und 8): Bluttransfusionen, Prednison.
Kurzer Verlauf: Fieber, Exanthem, Verschlechterung des AZ.
Exitus letalis bei Herz- und Kreislaufversagen.
Die Obduktion bestätigte die klinische Diagnose sieben Monate nach Bekanntwerden der unreifzelligen Leukose.

Tab. 5: Mitoseindex der ersten Kultur

	0 h			24 h			48 h			72 h		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
L	3	1			1	2						
M	4	1			1							
N				1	1							
O												
P												
Q	1											
R	739	59	73	632	153	132	342	203	307	-	-	-
‰	9,2	2,3	0	1,1	3,2	2,2						
MI-‰		11,5			6,5			0			-	
SM-‰	10,8	33,9	0	1,6	19,6	15,1	0	0	0	-	-	-

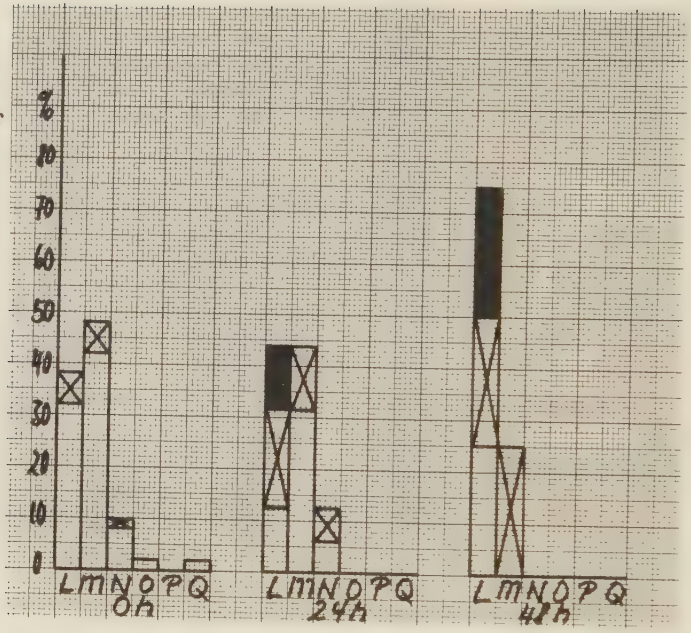
Abb. 5: Graphische Darstellung des Mitoseindexes der ersten Kultur



Tab. 6: Mitosephasenverteilung der ersten Kultur

	0 h			24 h			48 h			72 h		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
L	32	6		12,5	18,8	12,5	25	25	25			
M	42	6		31,3	12,5			25				
N	8	2		6,2	6,2							
O	2											
P												
Q	2											
%		100			100			100			-	
S		50			16			4				

Abb. 6: Karyologisches Histogramm der ersten Kultur

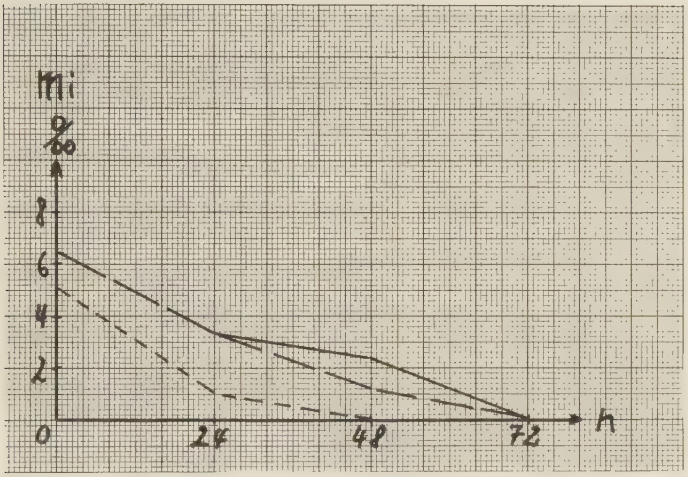


Tab. 7: Mitoseindex der zweiten Kultur[7)]

	0 h			24 h			48 h			72 h		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
L		1		1								
M	1				1							
N	1				1			1	1			
O	1											
P												
Q	1											
R	539	143	102	543	221	114	507	131	167	427	330	112
‰	5,1	1,3	0	1,1	2,2	0	0	1,2	1,2			
MI-‰		6,4			3,3			2,4			0	
SM-‰	7,4	7,0	0	1,8	9,1	0	0	7,6	6,0	0	0	0

7) Wie den klinischen Daten Seite 16 zu entnehmen ist, wurden bei der zweiten Patientin zwei Sternalpunktionen durchgeführt und somit zwei Kulturen untersucht.

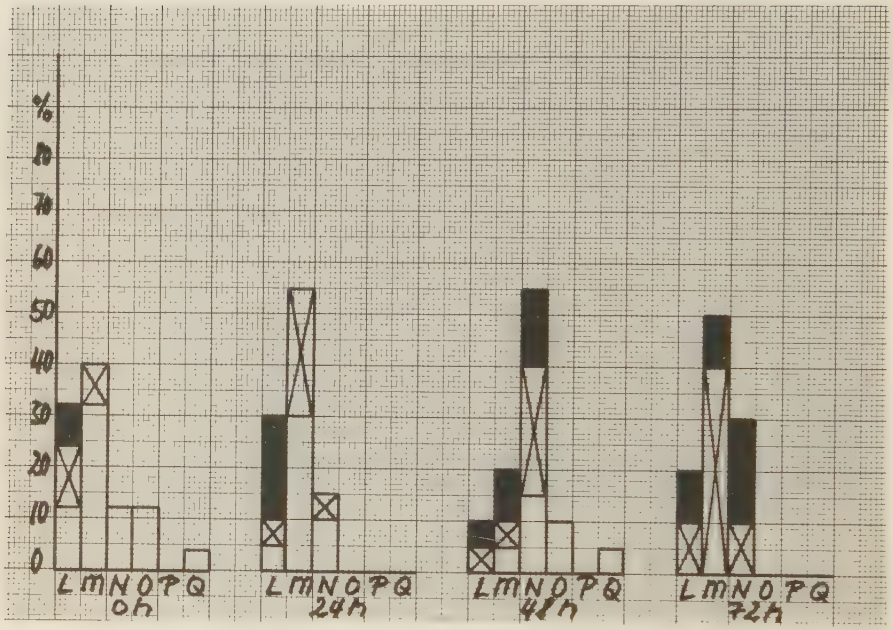
Abb. 7: Graphische Darstellung des Mitoseindexes der zweiten Kultur



Tab. 8: Mitosephasenverteilung der zweiten Kultur

	0 h			24 h			48 h			72 h		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
L	12	12	8	5	5	20		5	5		10	10
M	32	8		30	25		5	5	10		40	10
N	12			10	5		15	25	15		10	20
O	12						10					
P												
Q	4						5					
%		100			100			100			100	
S		25			20			20			10	

Abb. 8: Karyologisches Histogramm der zweiten Kultur



III

Ernst E., 47 Jahre; bei stationärer Aufnahme bestanden Gewichtsabnahme, schlechter Schlaf und schlechter Appetit, Schüttelfrost, Erbrechen, Durchfälle.

Erste Untersuchungsdaten: Ery.: 3.14 x 10^6/cmm; Hb 10,6 g%; Leuko.: 213000/cmm; Thrombo.: 169000/cmm; BSG: 3/15 mm/h.

Diagnose: unreifzellige Leukose

Therapie: vor der ersten Sternalpunktion (cf. Tab. 9 und 10, Abb. 9 und 10) spezifische Therapie mit Prednison und 6-Mercapto-purin; zwischen der ersten und zweiten Sternalpunktion (cf. Tab. 11 und 12, Abb. 11 und 12) spezifische Therapie mit Methotrexat.

Kurzer Verlauf: Exanthem auf den Lippen, Halsschmerzen, Durchfälle, Schüttelfrost, Erbrechen.

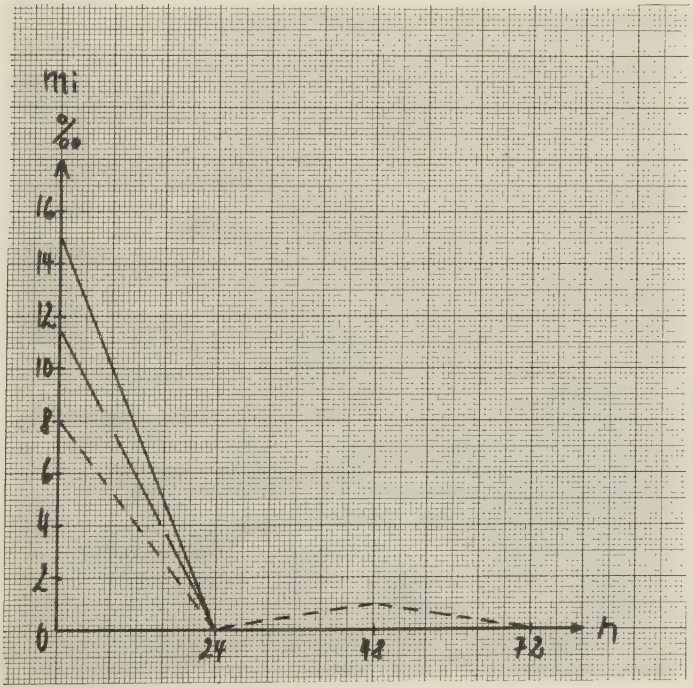
Exitus letalis durch Herzversagen.

Die Obduktion bestätigte die klinische Diagnose fünf Monate nach Bekanntwerden der unreifzelligen Leukose.

Tab. 9: Mitoseindex der ersten Kultur

	0 h			24 h			48 h			72 h		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
L	2	1										
M	3		3									
N	2	2					1					
O												
P												
Q												
R	486	211	167	440	219	278	413	224	304	374	345	260
‰	8,0	3,5	3,5				1,0					
MI-‰		15,0			0		1,0				0	
SM-‰	14,4	14,2	18,0	0	0	0	2,4	0	0	0	0	0

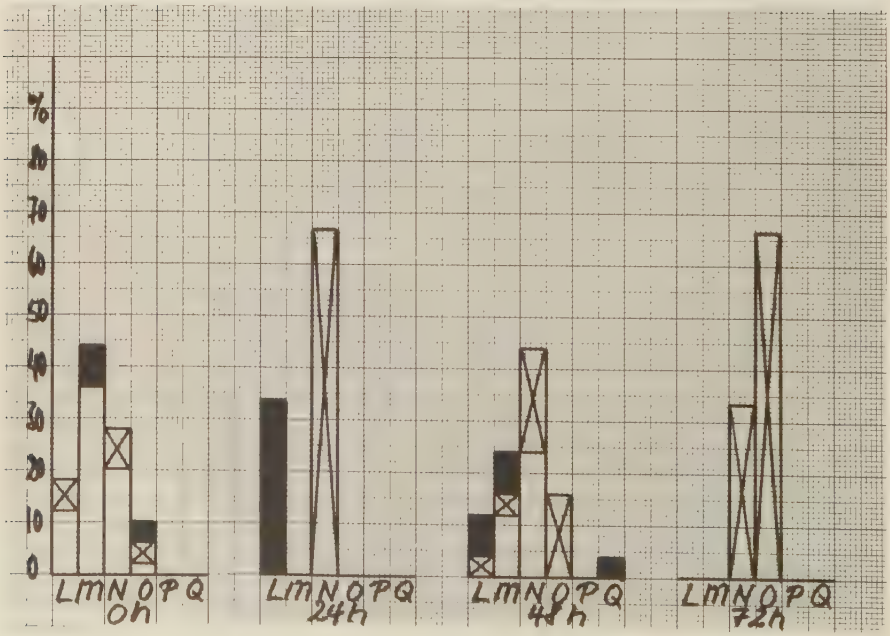
Abb. 9: Graphische Darstellung des Mitoseindexes der ersten Kultur



Tab. 10: Mitosephasenverteilung der ersten Kultur

	0 h			24 h			48 h			72 h		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
L	12	6				33,3		4	8			
M	36		8				12	4	8			
N	20	8			66,6		24	20			33,3	
O	2	4	4					16			66,3	
P												
Q									4			
%		100			100			100			100	
S		50			3			25			3	

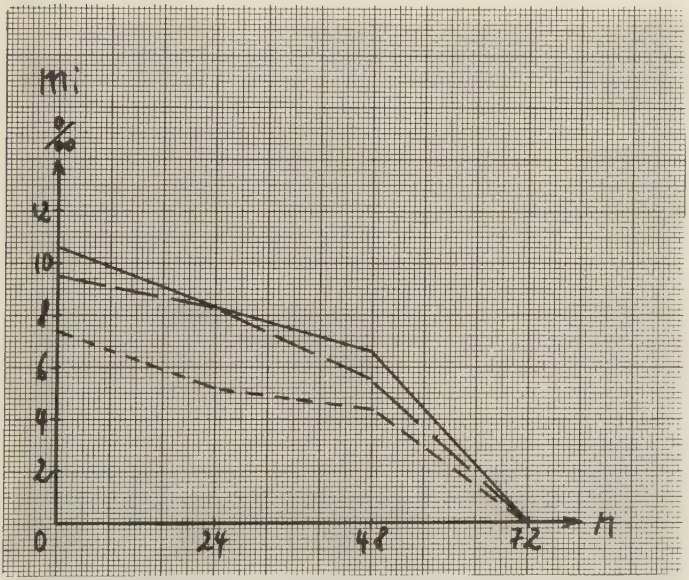
Abb. 10: Karyologisches Histogramm der ersten Kultur



Tab. 11: Mitoseindex der zweiten Kultur[8)]

	0 h			24 h			48 h			72 h		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
L	1	2			1				1			
M	6		1	2	1			1				
N				2	1		3					
O				1			1					
P												
Q												
R	716	193	27	600	263	98	470	306	138	383	320	252
‰	7,4	2,1	1,1	5,2	3,1		4,4	1,1	1,1			
MI-‰		10,6			8,3			6,6			0	
SM-‰	9,7	10,4	37,0	8,3	11,4	0	8,5	3,3	7,2	0	0	0

Abb. 11: Graphische Darstellung des Mitoseindexes der zweiten Kultur

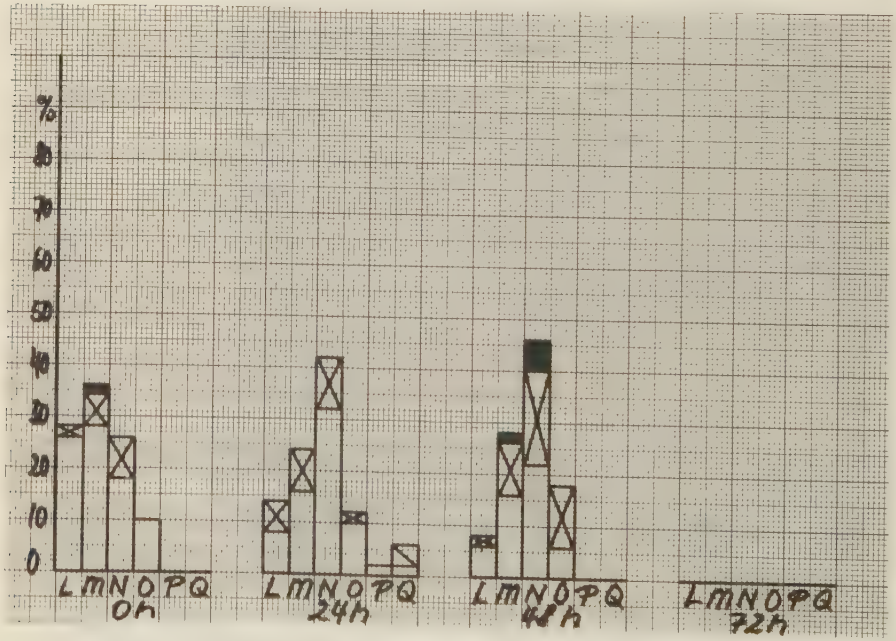


8) Wie den klinischen Daten Seite 20 zu entnehmen ist, wurden bei dem dritten Patienten zwei Sternalpunktionen durchgeführt und somit zwei Kulturen untersucht.

Tab. 12: Mitosephasenverteilung der zweiten Kultur

	0 h			24 h			48 h			72 h		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
L	26	2		8	6		6	2				
M	28	6	2	16	8		16	10	2			
N	18	8		32	10		22	18	6			
O	10			10	2		6	12				
P				2								
Q				2	4							
%		100			100			100			0	
S		50			50			50			0	

Abb. 12: Karyologisches Histogramm der zweiten Kultur



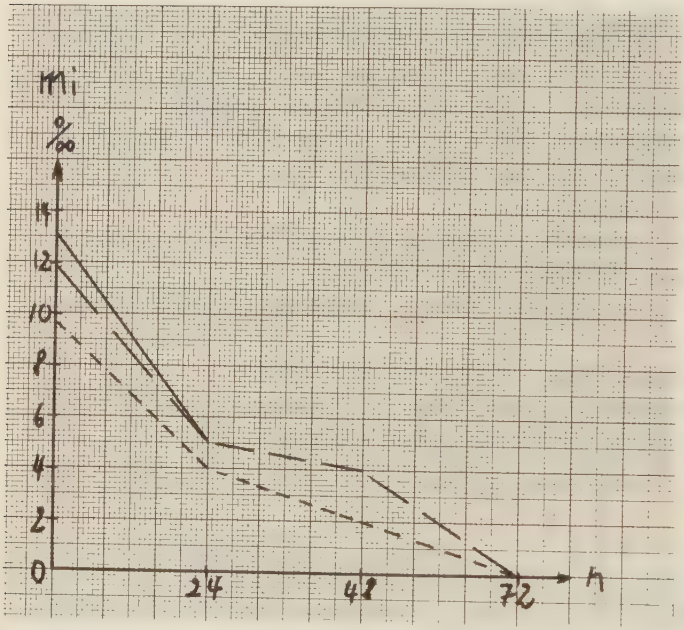
IV

Ursula D., 38 Jahre; bei stationärer Aufnahme bestanden schlechter Appetit, Gewichtsabnahme; seit Jahren ständig "blaue Flekken"; seit acht Monaten Mattigkeitsgefühl und Belastungsdyspnoe, blasses Aussehen; vor ca. sechs Wochen schwere Angina.
Erste Untersuchungsdaten: Ery.: 1,2 x 10^6/cmm; Hb: 4 g%; Leuko.: 1150/cmm; Thrombo.: 37280/cmm; BSG: 40/95 mm/h.
Diagnose: unreifzellige Leukose
Therapie: vor der Sternalpunktion (cf. Tab. 13 und 14, Abb. 13 und 14) spezifische Therapie mit Prednison.
Kurzer Verlauf: Ulcerationen, Anämie, Petechien, Verschlechterung des AZ.
Exitus letalis durch Herz- und Kreislaufversagen.
Die Obduktion bestätigte die klinische Diagnose 12 1/2 Monate nach Bekanntwerden der unreifzelligen Leukose.

Tab. 13: Mitoseindex

	0 h			24 h			48 h			72 h		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
L	2			2								
M	4	1	1	1	1			2				
N	2						2					
O				1								
P		1										
Q	1											
R	704	100	122	636	131	217	678	136	168	587	148	247
‰	9,7	2,2	1,1	4,0	1,0	0	2,0	2,0	0		0	
MI-‰		13,0			5,0			4,0				
SM-‰	12,8	20,0	8,2	6,4	7,6	0	3,0	14,7	0	0	0	0

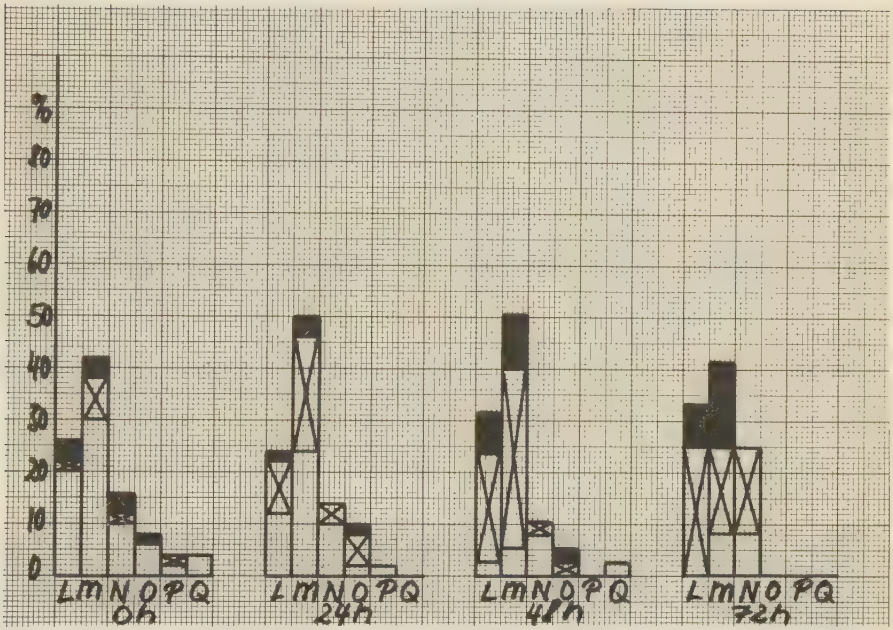
Abb. 13: Graphische Darstellung des Mitoseindexes



Tab. 14: Mitosephasenverteilung

	0 h			24 h			48 h			72 h		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
L	20	2	4	12	10	2	2,6	21,0	7,8		25,0	8,3
M	30	8	4	24	22	4	5,8	34,2	10,4	8,3	16,7	16,7
N	10	2	4	10	4		7,8	2,6		8,3	16,7	
O	6		2	2	6	2		2,6	2,6			
P	2	2		2								
Q	4						2,6					
%		100			100			100			100	
S		50			50			38			12	

Abb. 14: Karyologisches Histogramm



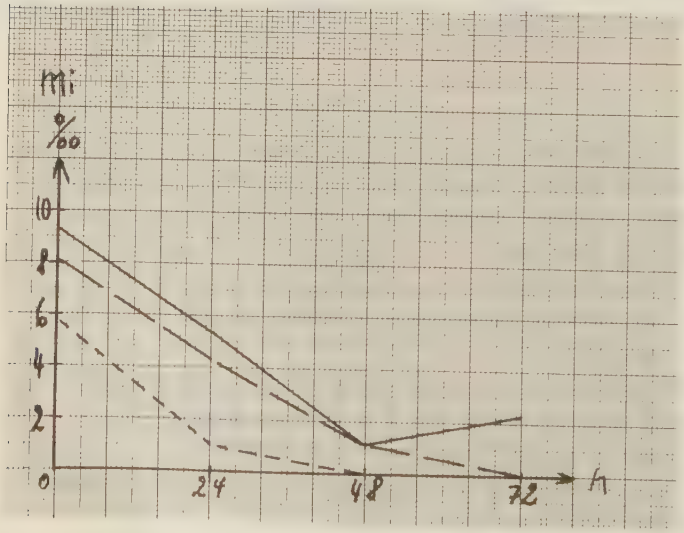
V

Richard W., 83 Jahre; bei stationärer Aufnahme bestanden Angina-pectoris-Anfälle, Schüttelfrost, Fieber, Müdigkeit, Atemnot.
Erste Untersuchungsdaten: Ery.: 2,87 x 10^6/cmm; Hb: 9,4 g%; Leuko.: 18350/cmm; Thrombo.: 62580/cmm; BSG: 2/4 mm/h.
Diagnose: unreifzellige Leukose
Therapie: vor der Sternalpunktion (cf. Tab. 15 und 16, Abb. 15 und 16) keine spezifische.
Kurzer Verlauf: zunehmende Verschlechterung des AZ bei Myeloblastenausschüttung und ständiger Vermehrung der Leukozyten.
Exitus letalis bei akutem Paraleukoblastenschub.
Die Obduktion bestätigte die klinische Diagnose 19 Tage nach Bekanntwerden der unreifzelligen Leukose.

Tab. 15: Mitoseindex

	0 h			24 h			48 h			72 h		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
L	1		1		1	1						1
M	2	1										
N		1		1	1			1				1
O	2				1							
P												
Q												
R	485	243	135	304	451	164	85	452	374	58	350	447
‰	5,8	2,3	1,2	1,1	3,2	1,1	0	1,1	0	0	0	2,3
MI-‰		9,3			5,4			1,1			2,3	
SM-‰	10,3	8,2	7,4	3,3	6,6	6,1	0	2,2	0	0	0	4,5

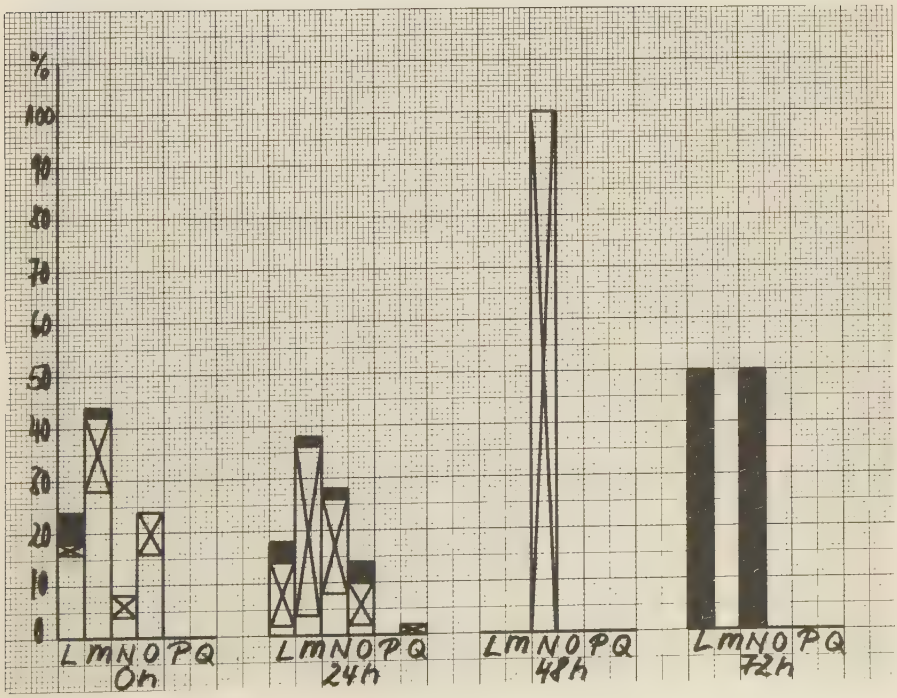
Abb. 15: Graphische Darstellung des Mitoseindexes



Tab. 16: Mitosephasenverteilung

	0 h			24 h			48 h			72 h		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
L	16	2	6	2	12	4						50
M	28	14	2	4	32	2						
N	4	4		8	18	2		100				50
O	16	8		2	8	4						
P												
Q					2							
%		100			100			100			100	
S		50			50			1			2	

Abb. 16: Karyologisches Histogramm



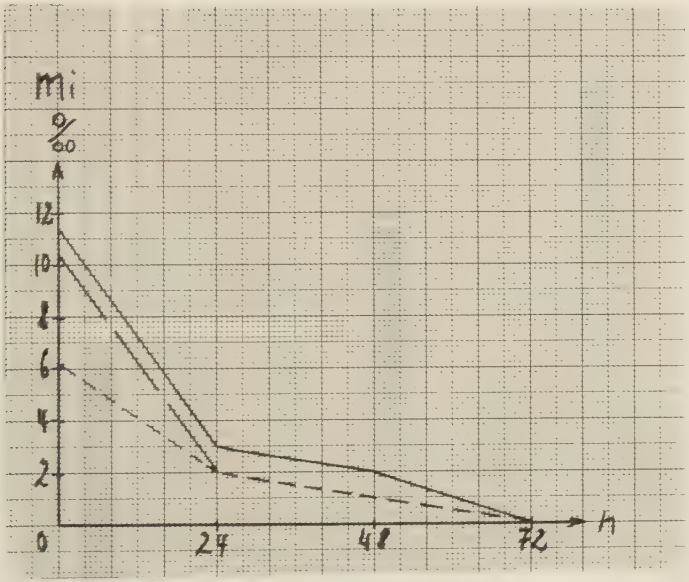
VI

Emma H., 69 Jahre; bei stationärer Aufnahme bestanden Blässe, Müdigkeit und starke Gewichtsabnahme.
Erste Untersuchungsdaten: Ery.: 0,7 x 10^6/cmm; Hb: 2,5 g%; Leuko.: 2300/cmm; Thrombo.: 15000/cmm; BSG: 140/175 mm/h.
Diagnose: unreifzellige Leukose
Therapie: vor der Sternalpunktion (cf. Tab. 17 und 18, Abb. 17 und 18) spezifische Therapie 17 Tage mit 6-Mercapto-purin.
Kurzer Verlauf: Hämorrhagische Diathese, Verschlechterung des AZ bei erhöhter Temperatur, Blutungen aus der Nase.
Exitus letalis durch Herz- und Kreislaufversagen.
Die Obduktion bestätigte die klinische Diagnose 31 Tage nach Bekanntwerden der unreifzelligen Leukose.

Tab. 17: Mitoseindex

	0 h			24 h			48 h			72 h		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
L	2	1	1	1		1	1		1			
M												
N	3	2		1								
O	1	1										
P												
O												
Q												
R	363	390	198	350	420	210	436	75	465	218	103	679
‰	6,2	4,1	1,0	2,0	0	1,0	1,0	0	1,0			
MI-‰		11,3			3,0			2,0			0	
SM-‰	16,5	10,2	5,0	5,7	0	4,8	2,3	0	2,2	0	0	0

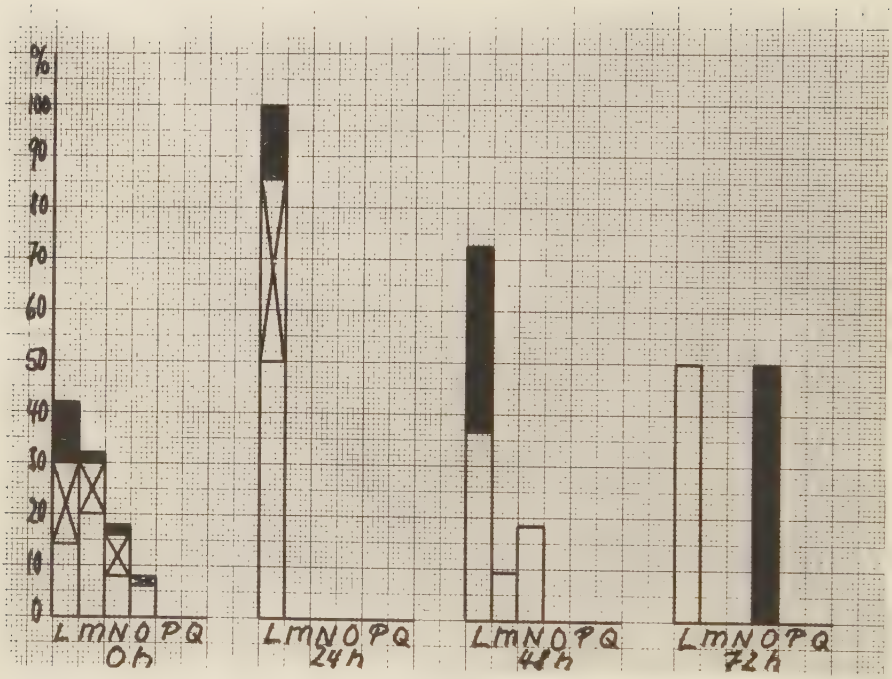
Abb. 17: Graphische Darstellung des Mitoseindexes



Tab. 18: Mitosephasenverteilung

	0 h			24 h			48 h			72 h		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
L	14	16	12	50,0	35,7	14,3	36,3		36,3	50		
M	20	10	2				9,1					
N	8	8	2				18,2					
O	6	2										50
P												
Q												
%		100			100			100			100	
S		50			14			11			2	

Abb. 18: Karyologisches Histogramm



VII

Luise L., 73 Jahre; bei stationärer Aufnahme bestanden Appetitlosigkeit, Ulcerationen im Mund, seit drei Wochen Mattigkeit, starker Gewichtsverlust, "blaue Flecken" und Blutungen aus den Ulcera.

Erste Untersuchungsdaten: Ery.: 4,76 x 10^6/cmm; Hb: 12,6 g%; Leuko.: 130000/cmm; Thrombo.: 116000/cmm; BSG: 49/74 mm/h.

Diagnose: unreifzellige Leukose

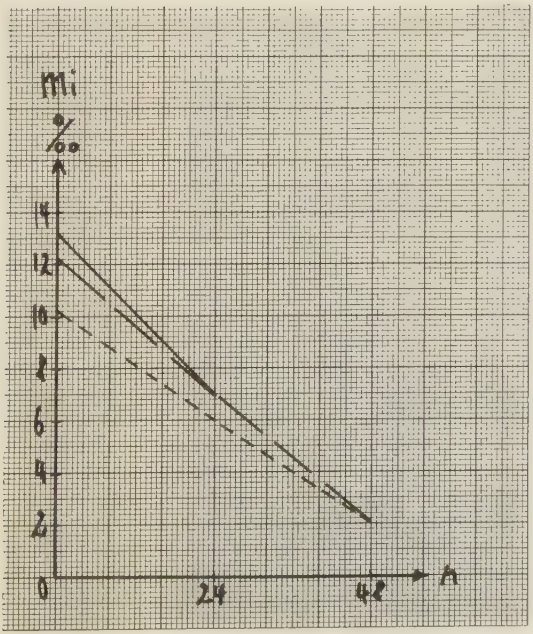
Therapie: vor der Sternalpunktion (cf. Tab. 19 und 20, Abb. 19 und 20) keine spezifische.

Exitus letalis infolge plötzlicher Massenblutung im Gehirn. Die Obduktion bestätigte die klinische Diagnose fünf Tage nach Bekanntwerden der unreifzelligen Leukose.

Tab. 19: Mitoseindex

	0 h			24 h			48 h			72 h		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
L	1	1										
M	3	1		3	1							
N	3		1	3			2					
O	3											
P												
Q												
R	517	358	86	619	105	267	201	517	276	-	-	-
‰	10,2	2,0	1,0	6,0	1,0	0	2	0	0			
MI-‰		13,2			7,0			2			-	
SM-‰	19,4	5,6	11,6	9,7	9,5	0	9,9	0	0	-	-	-

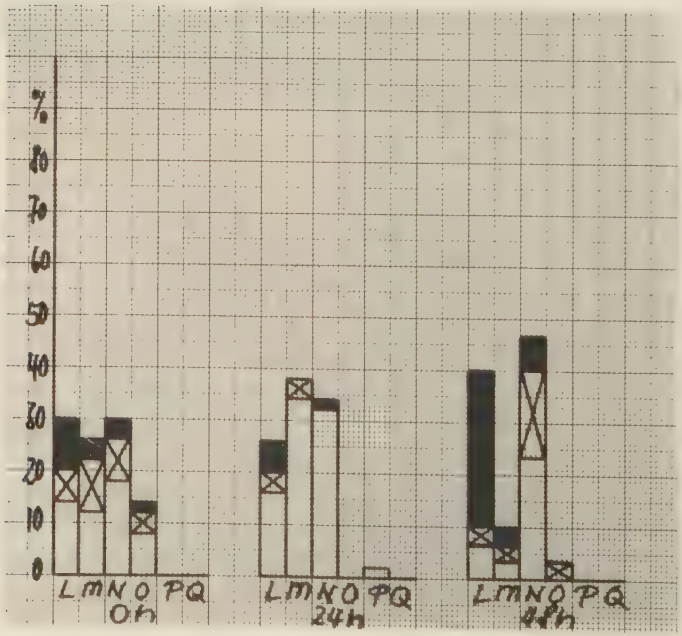
Abb. 19: Graphische Darstellung des Mitoseindexes



Tab. 20: Mitosephasenverteilung

	0 h			24 h			48 h			72 h		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
L	14	6	10	16	4	6	6,7	3,3	30,0			
M	12	10	4	34	4		3,3	3,3	3,3			
N	18	8	4	32		2	23,3	16,6	6,7			
O	8	4	2					3,3				
P				2								
Q												
%		100			100			100			-	
S		50			50			30			-	

Abb. 20: Karyologisches Histogramm



VIII

Edith P., 33 Jahre; bei stationärer Aufnahme bestanden Drüsenschwellung an der linken Halsseite, Zahnfleischbluten, "blaue Flecken", seit fünf Monaten starke Müdigkeit und Temperatur um 38°C.

Erste Untersuchungsdaten: Ery.: 3,88 x 10^6/cmm; Hb: 12,7 g%; Leuko.: 166000/cmm; Thrombo.: 97000/cmm; BSG: 15/21 mm/h.

Diagnose: unreifzellige Leukose

Therapie: vor der Sternalpunktion (cf. Tab. 21 und 22, Abb. 21 und 22) spezifische Therapie vier Wochen mit 6-Mercapto-purin.

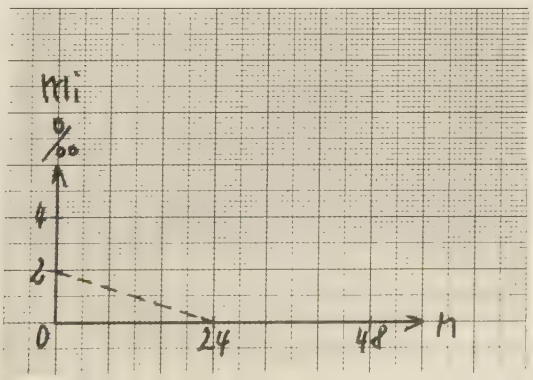
Kurzer Verlauf: Zunehmende, unaufhaltsame Verschlechterung des AZ. Exitus letalis durch Herz- und Kreislaufversagen.

Die Obduktion bestätigte die klinische Diagnose vier Monate nach Bekanntwerden der unreifzelligen Leukose.

Tab. 21: Mitoseindex

	0 h			24 h			48 h			72 h		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
L												
M	1											
N												
O	1											
P												
Q												
R	968	2	30	956	12	32	872	42	86	-	-	-
‰	2											
MI-‰		2			0			0			-	
SM-‰	2,1	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-

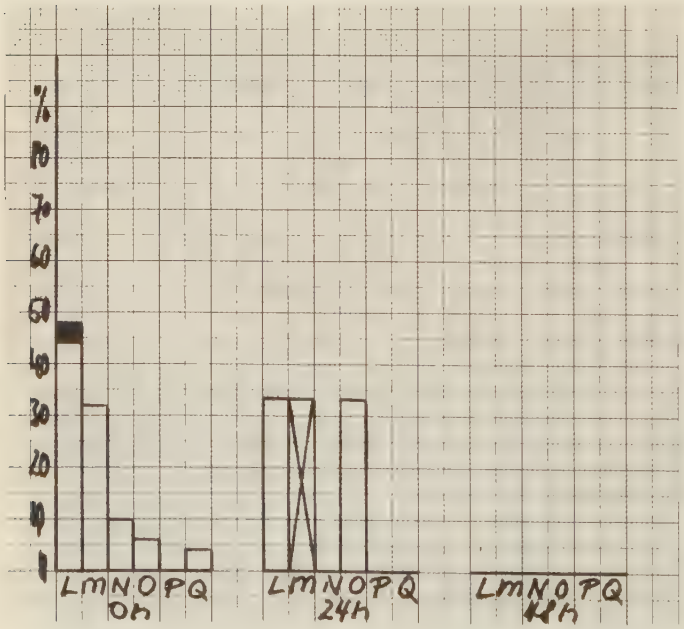
Abb. 21:
Graphische Darstellung des Mitoseindexes



Tab. 22: Mitosephasenverteilung

	0 h			24 h			48 h			72 h		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
L	44		4	33,3								
M	32				33,3							
N	10											
O	6			33,3								
P												
Q	4											
%		100			100			0			-	
S		50			3			0			-	

Abb. 22: Karyologisches Histogramm



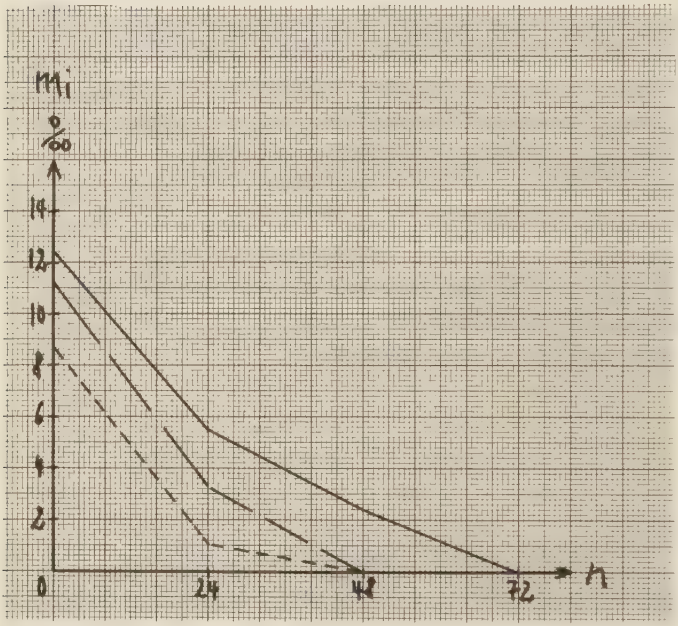
IX

Frieda P., 55 Jahre; bei stationärer Aufnahme bestanden unklare Beschwerden unter dem linken Rippenbogen nach Ovarialexstirpation, unter Irgapyrin R Leukozytensturz bis 1600 bei BSG von 57/88 mm/h.
Erste Untersuchungsdaten: Ery.: 3,73 x 10^6/cmm; Hb: 11,5 g%; Leuko.: 2800/cmm; Thrombo.: 134280/cmm; BSG: 21/44 mm/h.
Diagnose: unreifzellige Leukose
Therapie: vor der Sternalpunktion (cf. Tab. 23 und 24, Abb. 23 und 24) keine spezifische.
Exitus letalis durch Hirnblutung bei Hypertonus (RR 180/100 mmHg) Die Obduktion bestätigte die klinische Diagnose 4 1/2 Monate nach Bekanntwerden der unreifzelligen Leukose.

Tab. 23: Mitoseindex

	0h			24 h			48 h			72 h		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
L	1				2				1			
M	1	2				1			1			
N	3		1	1								
O	1											
P	1					1						
Q												
R	465	109	231	383	269	254	239	167	424	195	240	385
‰	8,7	2,5	1,2	1,1	2,2	2,2	0	0	2,4		0	
MI-‰		12,4			5,5			2,4			0	
SM-‰	15,0	18,3	4,3	2,6	7,4	7,9	0	0	4,7	0	0	0

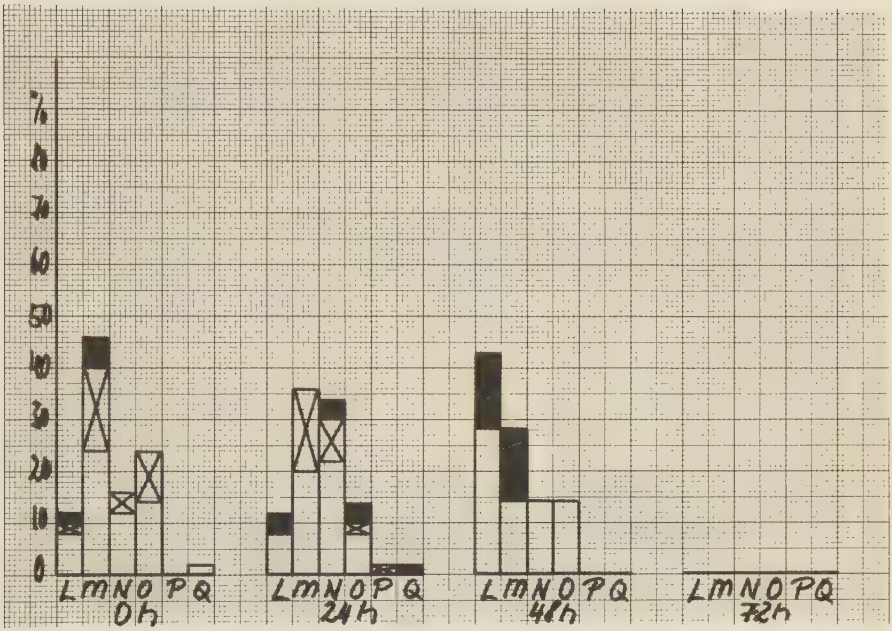
Abb. 23: Graphische Darstellung des Mitoseindexes



Tab. 24: Mitosephasenverteilung

	0 h			24 h			48 h			72 h		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
L	8	2	2	8		4	28,6		14,3			
M	24	16	6	20	16		14,3		14,3			
N	12	4		22	8	4	14,3					
O	14	10		8	2	4	14,3					
P					2							
Q	2					2						
%		100			100			100			0	
S		50			50			7			0	

Abb. 24: Karyologisches Histogramm



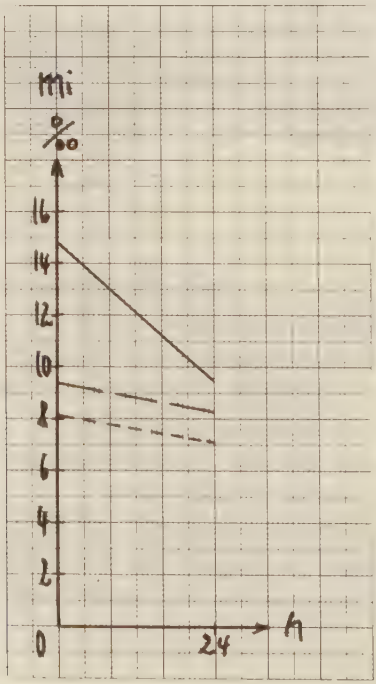
X

Heinrich B., 73 Jahre; bei stationärer Aufnahme bestand unstillbares Nasenbluten.
Erste Untersuchungsdaten: Ery.: 3,99 x 10^6/cmm; Hb: 14,9 g%; Leuko.: 33900/cmm; Thrombo.: 181000/cmm; BSG: 10/25 mm/h.
Diagnose: unreifzellige Leukose
Therapie: vor der Sternalpunktion (cf. Tab. 25 und 26, Abb. 25 und 26) keine spezifische.
Exitus letalis bei Herz- und Kreislaufversagen
Die Obduktion bestätigte die klinische Diagnose 3 1/2 Jahre nach Bekanntwerden der unreifzelligen Leukose.

Tab. 25: Mitoseindex

	0 h			24 h			48 h			72 h		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
L	2		1	1								
M	3		2	2								
N	1	1	1	3	1	1						
O												
P												
Q												
R	412	104	226	386	132	323	-	-	-	-	-	-
‰	8,1	1,3	5,4	7,1	1,2	1,2						
MI-‰		14,8			9,5			-			-	
SM-‰	14,6	9,6	17,7	15,5	7,6	3,1						

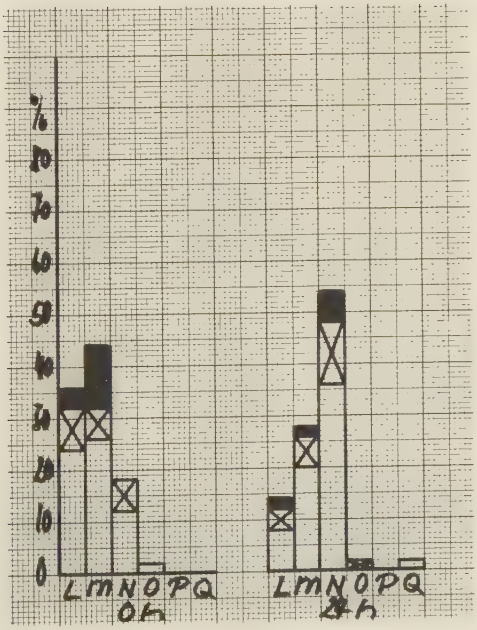
Abb. 25:
Graphische Darstellung
des Mitoseindexes



Tab. 26: Mitosephasenverteilung

	0 h			24 h			48 h			72 h		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
L	24	8	4	8	4	2						
M	26	6	12	20	6	2						
N	12	6		36	12	6						
O	2				2							
P												
Q				2								
%		100			100			-			-	
S		50			50			-			-	

Abb. 26:
Karyologisches
Histogramm



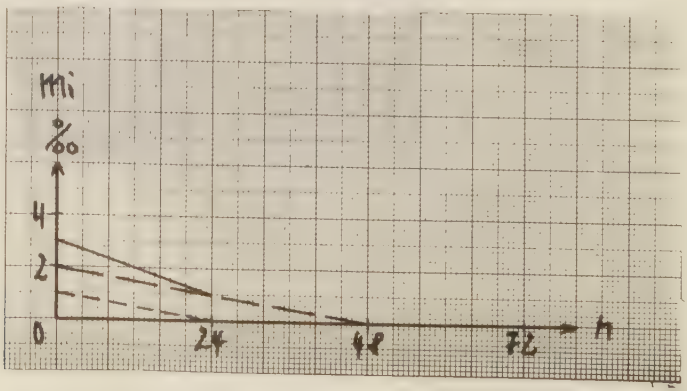
XI

Edith W., 37 Jahre; bei stationärer Aufnahme bestanden akute Angina, Halsschmerzen und angeblich seit längerer Zeit Anämie.
Erste Untersuchungsdaten: Ery.: 1,81 x 10^6/cmm; Hb: 7,6 g%; Leuko.: 3750/cmm; Thrombo.: 170000/cmm; BSG: 111/138 mm/h.
Diagnose: unreifzellige Leukose
Therapie: vor der Sternalpunktion (cf. Tab. 27 und 28, Abb. 27 und 28) keine spezifische.
Kurzer Verlauf: langdauernde Regelblutung, Petechien, extreme Anämie, terminale Bronchopneumonie.
Exitus letalis durch Herzversagen
Die Obduktion bestätigte die klinische Diagnose fünf Monate nach Bekanntwerden der unreifzelligen Leukose.

Tab. 27: Mitoseindex

	0 h			24 h			48 h			72 h		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
L		1	1									
M	1				1							
N												
O												
P												
Q												
R	524	177	232	467	288	230	436	104	448	263	225	512
‰	1	1	1		1							
MI-‰		3			1			0			0	
SM-‰	1,9	5,7	4,3	0	3,5	0	0	0	0	0	0	0

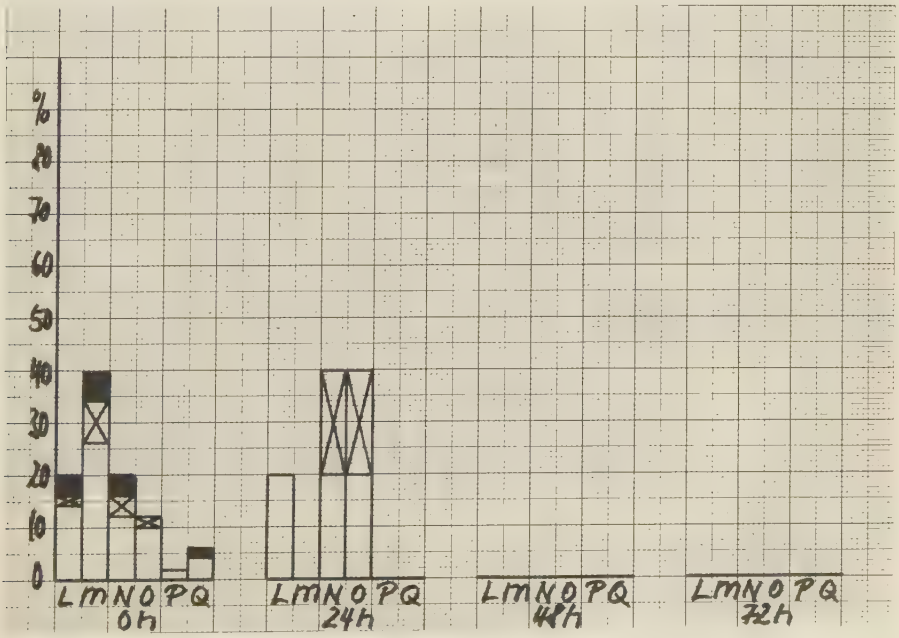
Abb. 27: Graphische Darstellung des Mitoseindexes



Tab. 28: Mitosephasenverteilung

	0 h			24 h			48 h			72 h		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
L	14	2	4	20								
M	26	8	6									
N	12	4	4	20	20							
O	10	2		20	20							
P	2											
Q	4		2									
%		100			100			0			0	
S		50			5			0			0	

Abb. 28: Karyologisches Histogramm



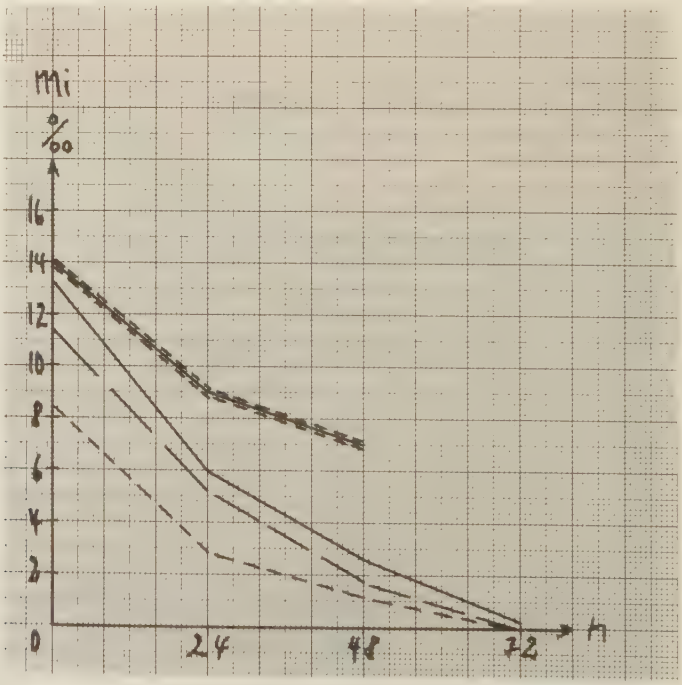
Zusammenfassung der Ergebnisse:

Die Ergebnisse über den Mitoseindex in den Tabellen 1, 3, 5, 7 ... 27 wurden addiert. Das arithmetische Mittel daraus wird hier tabellarisch und graphisch dargestellt.

Tab. 29[9]: Durchschnittsmitoseindices aller 14 Versuche in ‰

	0 h			24 h			48 h			72 h		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
v	8,4	3,0	1,8	2,9	2,3	0,8	1,1	0,6	0,9	0	0	0,2
w		13,2			6,0			2,6			0,2	
z		14			9			7			-	
u	14,8	18,9	10,4	5,6	8,7	4,1	3,0	2,8	3,0	0	0	0,3

Abb. 29[10]: Graphische Darstellung des Durchschnittsmitoseindexes aller 14 Versuche

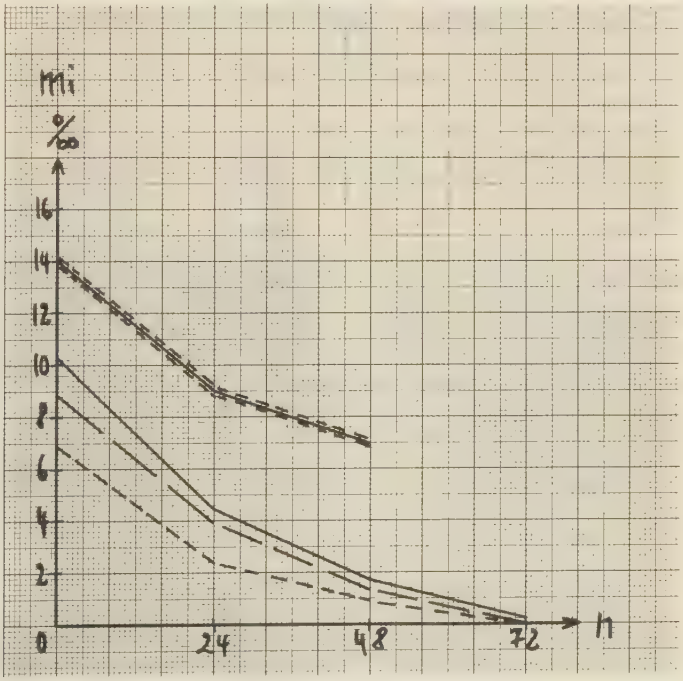


9) s.a. Fußnote 2), Seite 10 f.
v = Mittelwerte der Mitoseindices von A, B bzw. C aller 14 Versuche (I - XI)
w = Summe der Mitoseindices von v (A + B + C)
z = Vergleichswerte nach BOLL (8)
u = Mittelwerte der spezifischen Mitoseindices von A, B bzw. C aller 14 Versuche (I - XI)

Tab. 30[11]: Durchschnittsmitoseindices der letzten 12 Versuche

	0 h			24 h			48 h			72 h		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
x	6,8	2,0	1,4	2,4	1,5	0,6	0,9	0,4	0,4	0	0	0,2
y		10,2			4,5			1,7			0,2	
z		14			9			7			-	
r	11,2	11,9	10,6	4,6	6,7	3,1	2,2	2,3	1,7	0	0	0,4

Abb. 30[12]: Graphische Darstellung des Durchschnittsmitoseindexes der letzten 12 Versuche



10) (siehe Seite 44, Abb. 29)
s.a. Fußnote 3), Seite 11 f.
$\frac{\text{---------}}{\text{---------}} = z$

11) s.a. Fußnote 2), Seite 10 f.
x = Mittelwerte der Mitoseindices von A, B bzw. C der letzten 12 Versuche (II - XI)
y = Summe der Mitoseindeces von x (A + B + C)
z = Vergleichswerte nach BOLL (8)
r = Mittelwerte der spezifischen Mitoseindices von A, B bzw. C der letzten 12 Versuche (II - XI)

12) s.a. Fußnote 10)

Die Ergebnisse über die Mitosephasenverteilung in den Tabellen 2, 4, 6, 8 ... 28 wurden addiert. Das arithmetische Mittel daraus wird hier tabellarisch und graphisch dargestellt.

Tab. 31[13]: Durchschnittsmitosephasenverteilung

	0 h			24+48+72 h		
	A	B	C	A	B	C
L	19,1	5,6	4,2	7,9	7,1	8,1
M	26,5	8,2	4,2	13,0	13,8	5,4
N	13,4	4,6	1,3	15,5	11,6	4,9
O	7,9	2,5	0,7	3,8	4,4	1,6
P	0,4	0,1	0	0,5	0,5	0,1
Q	1,3	0	0	0,7	0,6	0,5
%		100			100	
S	463	142	70	361	332	180
X		675			873	

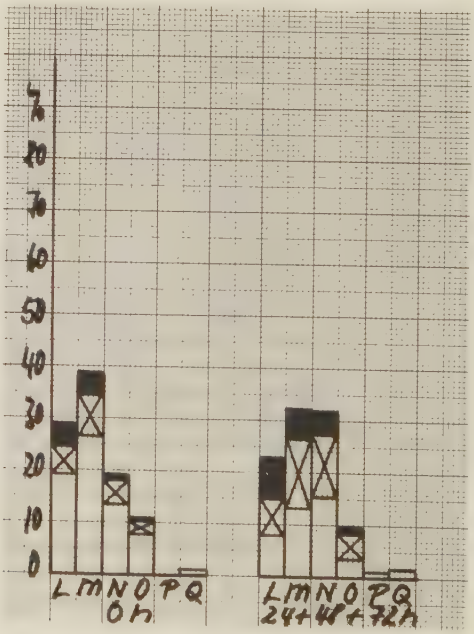


Abb. 31[14]: Karyologisches Histogramm - Durchschnittsmitosephasenverteilung

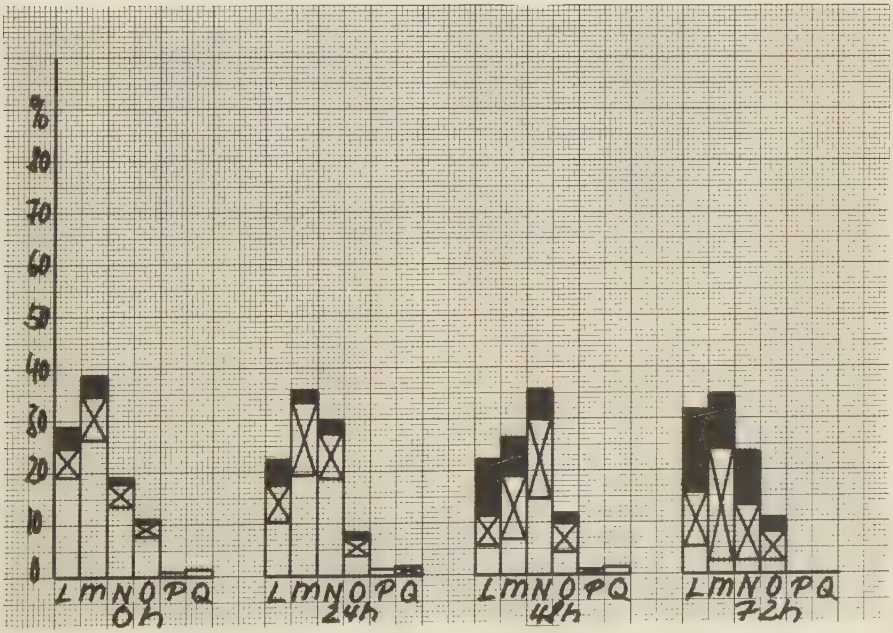
13) s.a. Fußnote 2) Seite 10 f. und Fußnote 4) Seite 12
X = Absolutzahl der Mitosen aller Phasen L - Q pro Zeiteinheit (A + B + C)
24 + 48 + 72 h = Mittelwerte aus den Kulturen von 24, 48 und 72 Stunden.

14) s.a. Fußnote 5) Seite 12, und Fußnote 13)

Tab. 32[15]: Durchschnittsmitosephasenverteilung

	0 h			24 h			48 h			72 h		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
L	19,1	5,6	4,2	10,2	7,4	4,8	5,3	6,0	10,9	5,2	10,5	15,8
M	26,5	8,2	4,2	19,4	13,9	2,6	6,8	12,1	7,9	2,6	21,4	10,5
N	13,4	4,6	1,3	18,3	9,2	2,6	14,7	15,1	6,8	2,6	10,5	10,5
O	7,9	2,5	0,7	3,7	3,3	1,4	4,2	5,7	1,9	2,6	5,2	2,6
P	0,4	0,1	0	0,9	0,2	0,2	0	1,1	0	0	0	0
Q	1,3	0	0	0,4	1,1	0,4	1,0	0	0,4	0	0	0
%	100			100			100			100		
X	675			459			337			77		

Abb. 32: Karyologisches Histogramm - Durchschnittsmitose-phasenverteilung



15) s.a. Fußnote 13), Seite 46
Die Durchschnittswerte werden hier für die jeweiligen Zeitpunkte 0, 24, 48, 72 h getrennt dargestellt.

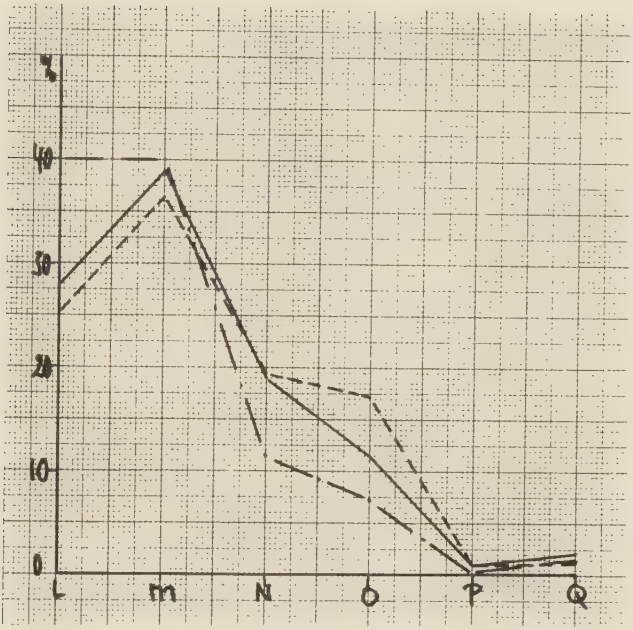
Karyologische Kurven in Vergleichen mit anderen Autoren

Tab. 33[16]: Vergleichswerte (in %) für karyologische Kurven (eigene, SCHULZ und BOLL)

	0 h			24+48+72 h								
	A	B	C	A	B	C	f	g	i	k	l	m
L	27,9	25,3	40,0	19,8	18,8	39,6	30,9	26,1	32,5	37,5	19	20,2
M	38,7	36,2	40,0	28,4	36,3	26,0	38,2	30,3	39,0	15,5	28	39,1
N	18,9	19,3	11,4	39,2	30,4	24,0	17,1	31,2	14,5	20,0	34	20,4
O	11,6	17,2	7,2	9,5	11,4	8,0	12,4	9,7	9,5	22,5	12	14,8
P	0,7	0,7	0	1,2	1,5	0,5	0,3	1,0	2,5	4,0	4	2,7
Q	2,1	1,2	1,4	1,7	1,5	1,8	1,1	1,6	2,0	0,5	3	2,8
%	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

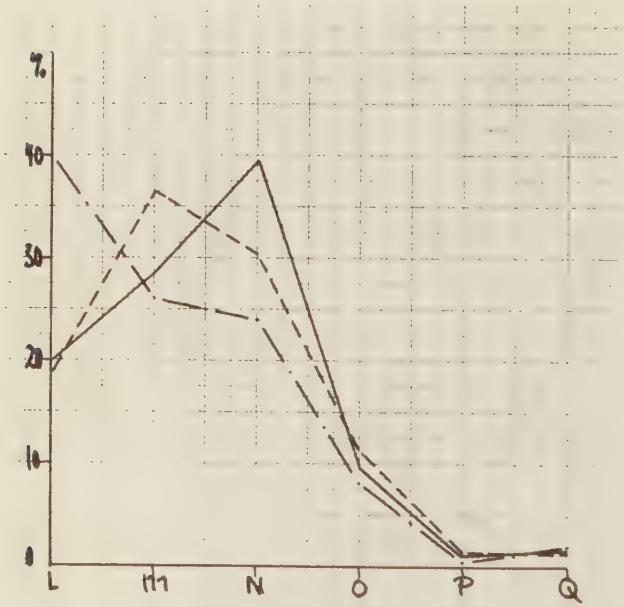
16) Die Zahlen in der Tabelle sind Prozentzahlen - jede Spalte addiert ergibt 100%.
f = Mittelwerte aus A, B und C bei 0 h
g = Mittelwerte aus A, B und C bei 24 + 48 + 72 h
i = Vergleichswerte: A bei 0 h (SCHULZ)
k = Vergleichswerte: B bei 0 h (SCHULZ)
l = Vergleichswerte: normale Granuloblasten bei 0 h (d.h.: A + B) (BOLL)
m = Vergleichswerte: Paraleukoblasten bei 0 h (BOLL/GANSSEN)

Abb. 33[17]: Karyologische Kurve - Mitosephasenverteilung bei 0 h



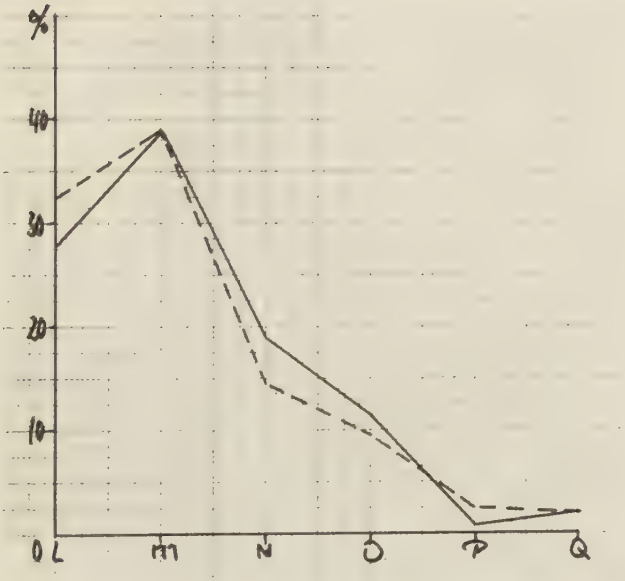
17) ——————— = A Myeloblasten
--------------- = B Promyelozyten
——·——·——·—— = C Myelozyten
s.a. Fußnote 2), Seite 10 f.

Abb. 34[18]: Karyologische Kurve - Mitosephasenverteilung in Kultur



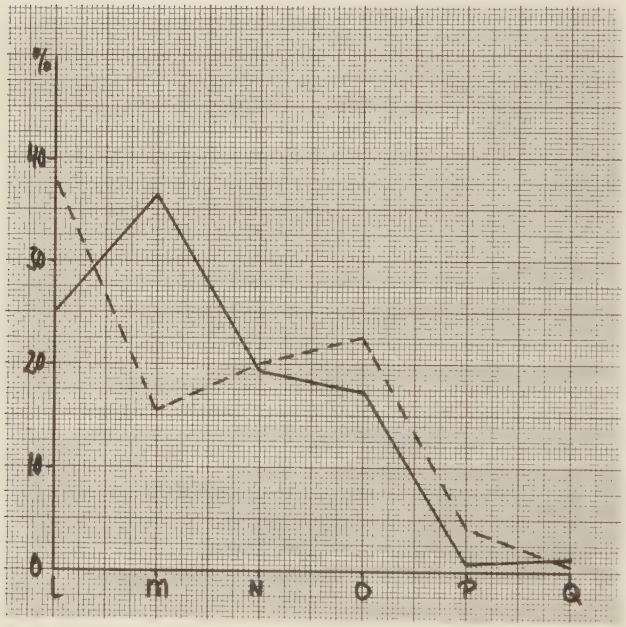
18) s.a. Fußnote 17), Seite 49

Abb. 35[19]: Karyologische Kurve - Myeloblasten
Vergleich von A (eigene) bei 0 h mit A (SCHULZ) bei 0 h



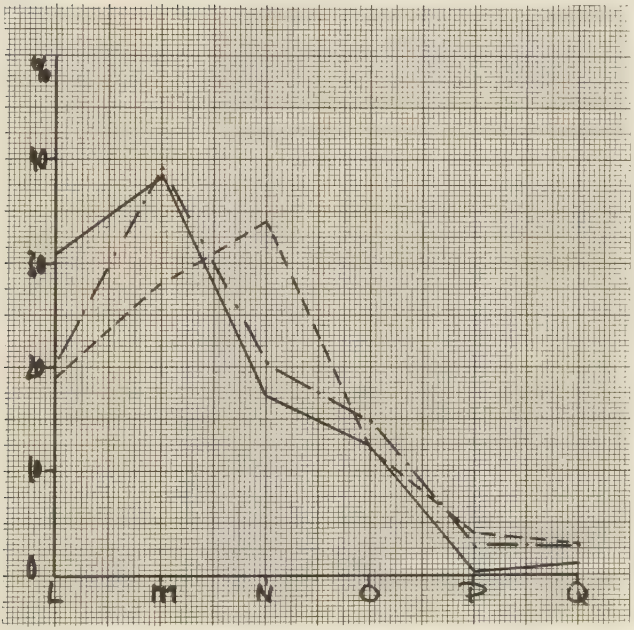
19) ——————— = A (eigene) bei 0 h
--------------- = A (SCHULZ) bei 0 h
(Spalte i der Tab. 33, Seite 48)

Abb. 36[20]: Karyologische Kurve - Promyelozyten
Vergleich von B (eigene) bei 0 h mit B (SCHULZ) bei 0 h



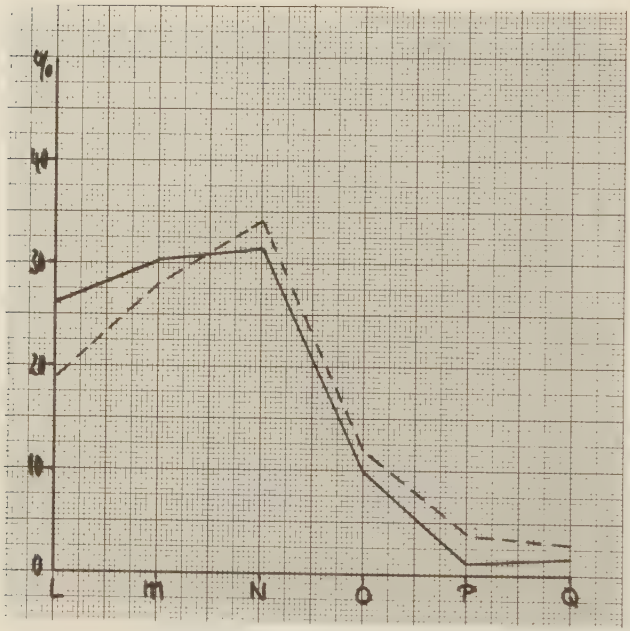
20) ——————— = B (eigene) bei 0 h
--------------- = B (SCHULZ) bei 0 h
(Spalte k der Tab. 33, Seite 48)

Abb. 37[21]: Karyologische Kurve - Vergleich der Mittelwerte aus A, B und C bei O h (eigene) mit normalen Granuloblasten bei O h (BOLL) und mit Paraleukoblasten bei O h (BOLL/GANSSEN)



21) ———————— = f eigene (A+B+C) Original
---------- = l normale Granuloblasten in vivo (BOLL)
——·——·——·—— = m Paraleukoblasten (GANSSEN)
s.a. Tab. 33, Seite 48

Abb. 38[22]: Karyologische Kurve - Vergleich der Mittelwerte aus A, B und C in Kultur (eigene) mit normalen Granuloblasten bei 0 h (BOLL)



22) ——————— = g eigene (A+B+C) in vitro
---------- = l normale Granuloblasten in vivo (BOLL)
s.a. Tab. 33, Seite 48

IV. Diskussion

Die Überlebenderhaltung der Knochenmarkzellen interessiert nur drei Tage lang, da Blutzellvorstufen, die nicht ausreifen, später entdifferenzieren und fibroblastoid umgewandelt werden (FRIEDERICI, cit.n. BOLL und FUCHS). Abweichungen der Zellzusammensetzung, die sich in einem geschlossenen System zwangsläufig ergeben, wurden von FUCHS mathematisch berechnet. Mitosehäufigkeit, Verweildauer in den einzelnen Reifestadien bzw. zeitliche Umwandlungen der Zellen wurden befriedigend vorhergesagt. Das heißt, daß die Zellproliferation in den ersten drei Tagen durch das Kulturmedium nicht wesentlich beeinflußt wird. Innerhalb dieser Zeit hängt das Verhalten der hämatopoetischen Zellen von ihrer Eigengesetzlichkeit, wie sie auch in vivo vorliegt, ab.

Bei unseren 14 Fällen unreifzelliger Leukose nahm der Mitoseindex in Knochenmarkkulturausstrichen als Kriterium der Regeneration mit zunehmender Kultivierungszeit (untersucht an Zeitquerschnitten von 0 h, 24 h, 48 h und 72 h) ab, sichtbar an den einzelnen graphischen Darstellungen des Mitoseindexes (Abb. 1, 3, 5, 7 ... 27) wie an denen des Durchschnittsmitoseindexes (Abb. 29 und 30). Dies Ergebnis deckt sich mit dem von SALERA und TAMBURINO, nur mit dem Unterschied, daß sie keine Abhängigkeit von der Kultivierungszeit angegeben haben.

Im Frischpräparat ist der Mitoseindex der Leukoblasten immer höher als bei den Kulturen. Der Fall I zeigt, besonders bei der zweiten Punktion, eine einmalige Erhöhung des Mitoseindexes als Ausdruck eines akuten Schubs, was sich bei der graphischen Darstellung des Durchschnittsmitoseindexes (Abb. 29 und 30) und in den entsprechenden Tabellen in einer Erhöhung der Werte ausdrückt.

Bei 24 h sind die Ergebnisse eindeutig, d.h.: der Mitoseindex ist im Vergleich zu 0 h in allen Fraktionen niedriger. Etwas außerhalb der Reihe bewegt sich Fall III, erste Punktion, äußerst schlecht diagnostizierbare Präparate.

Bei 48 h nimmt der Mitoseindex größtenteils im Verhältnis zu 0 und 24 h linear ab; im Fall X existieren bereits keine diagnostizierbaren Kulturen mehr; im Fall VIII bleibt der Mitoseindex

wie bei 24 h, d.h. gleich null; im Fall III, erste Punktion, liegt ein im Vergleich zu 24 h besser diagnostizierbares Präparat vor mit dem Mitoseindex von 1,0.
Bei 72 h fällt der Mitoseindex, verglichen mit früheren Kulturen, linear (ausgenommen Fall III, erste Punktion; siehe bei 24 bzw. 48 h) auf null. In den Fällen VII, VIII und X existieren keine diagnostizierbaren Präparate. Im Fall XI ist der Mitoseindex wie bei 48 h gleich null. Fall V bildet die einzige Ausnahme: der Mitoseindex bei 72 h ist größer als bei 48 h. Dieser Einzelfall besagt nicht viel - hinzu kommen beginnende Zerfallserscheinungen einer 72-stündigen Kultur und die daraus resultierende weniger gute Diagnostizierbarkeit der Präparate.
Die einzelnen Mitoseindices und somit auch der Durchschnittsmitoseindex nehmen also mit zunehmender Kultivierungszeit ab. Weiterhin verschiebt sich im Laufe der Kultivierungszeit die Mitoseverteilung vom Myeloblast (A) über Promyelozyt (B) zum Myelozyt (C). Das ist deutlich sichtbar an den einzelnen karyologischen Histogrammen (Abb. 2, 4, 6, 8 ... 28) wie an denen der Durchschnittsmitosephasenverteilung (Abb. 31 und 32). Diese Verschiebung der Regeneration zu den reiferen Granuloblasten zeigen alle Fälle, ausgenommen Fall III, erste Punktion, und Fall XI. Sie muß als Reifungstendenz aufgefaßt werden. Mikroformen von A, B und C werden nie in Mitose aufgefunden; dies ist therapeutisch insofern bedeutungsvoll, als bestimmte Pharmaka aus A, B und C Mikroformen entstehen lassen, die sich also nicht teilen können.
Die Autoren ASTALDI und MAURI, SALERA und TAMBURINO, GANSSEN und SCHULZ finden bei unreifzelliger Leukose einen erniedrigten Mitoseindex bei 0 h, verglichen mit dem der normalen Granulopoese. In vitro ist bei uns der Mitoseindex noch niedriger. Dies steht im Gegensatz zu den Ergebnissen an normalen Granuloblasten von BOLL, die in vitro bei 24 h einen höheren Mitoseindex als bei 0 h aufweisen. Die Regeneration verringert sich unter Kulturbedingungen weiter, berücksichtigt man die Lebendbeobachtungen von BOLL und GANSSEN, die aufzeigen, daß die Mitosedauer gegenüber der normaler Granuloblasten sogar verlängert ist. Eine Mitosedauerverkürzung kann demnach nicht die Ursache der Mitoseindexerniedrigung bei unreifzelliger

Leukose sein. Also ist die Regeneration bei unreifzelligen Leukosen in vitro noch mehr vermindert als in vivo. Der zugesetzte Wuchsstoff läßt bei der unreifzelligen Leukose die Regenerationsstimulation in vitro vermissen, die normalerweise vorliegt.

Eine gewisse Reifung findet hingegen statt. Sie manifestiert sich bei den Mitosezählungen an der Verschiebung zugunsten der Mitosen von Promyelozyten und Myelozyten bei zunehmender Kultivierungszeit.

V. Zusammenfassung

In 14 Fällen wurden Ausstriche von frischem und kultiviertem Knochenmark unreifzelliger Leukose hinsichtlich der Mitoseindices und der Mitosephasenverteilung untersucht. Der in vivo schon erniedrigte Mitoseindex nimmt im Laufe der Kultivierung weiter ab. Die Mitosephasenverteilung im Frischpräparat - dargestellt in karyologischen Kurven bzw. Histogrammen - weicht von der normaler Granulopoese ab. Die Prophasen und frühen Metaphasen sind vermehrt. In Kultur nähert sich die Phasenverteilung der bei der normalen Granulopoese.
Anhand der karyologischen Histogramme und der graphischen Darstellungen der Mitoseindices läßt sich dartun, daß mit zunehmender Kultivierungszeit Promyelozyten bzw. Myelozyten häufiger in Mitose auffindbar sind als in frischem Knochenmark; gelegentlich übertrifft in Kultur die absolute Anzahl Mitosen der reiferen Zellen die der unreiferen. Es scheinen hier Reifungsneigungen deutlich zu werden.

VI. Literatur

1. ASTALDI, G. and G. CARDINALI: On the relationship between proliferation and maturation of bloodforming cells surviving in vitro. Haem. Latina, Estratto dal Vol. II fasc, 1°, 17, (1959)

2. ASTALDI, G. et C. MAURI: Recherches sur l'activité prolifération de l'hémocytoblaste de la leucémie aigue. Revue Belge de Pathologie XXIII, No. 2, 71, (1953)

3. ASTALDI, G. e C. MAURI: La valutazione dell' attività proliferativa delle cellule midollari. Studio di un "Test Statmocinetico". Haematologica, Volume XXXIII - 1949

4. ASTALDI, G.: Functional Cytology in Leukemia - with Reference to Proliferating Activity. VIII. Kongr. Europ. Ges. Haematol. Wien 1961 (Vortragsmanuskript)

5. BOLL, I.: Morphologische Studien zum Verhalten von Knochenmarkszellen in vitro. - Granuloblastenmitosen - Folia haem., Neue Folge, 3, 1, 60 (1958)

6. BOLL, I.: Corresponding Experimental Results with DNA-Labeling and Phase-Contrast-Observation to Pathophysiology of Acute Leukemia. IX. Congr. europ. Soc. Haemat.,Lisbon 1963

7. BOLL, I.: Some Problems in Estimating Proliferative Kinetics of Granulocytopoiesis. IX. Congr. europ. Soc. Haemat.,Lisbon 1963

8. BOLL, I.: The Maturation of Normal Granulocytopoiesis in vitro Compared with that of Chronic Myelocytic Leukemia. IX. Congr. europ. Soc. Haemat.,Lisbon 1963

9. BOLL, I.: Haemocytoblasten in der Knochenmark-Kurzkultur. Proc. 10th Congr. Europ. Soc. Haemat., Strasbourg 1965, II : 591

10. BOLL, I.: Granulocytopoese unter physiologischen und pathologischen Bedingungen. Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1966

11. BOLL, I. und O. GANSSEN: Die Mitosedauer der Paraleukoblasten. Acta haem., 27, 229 (1962)

12. BOLL, I. und G. FUCHS: Vereinfachtes Verfahren zur kurzfristigen Kultivierung von menschlichem Knochenmark in vitro. Zsch. für Blutforsch., VII, 257 (1961)

13. CRADDOCK, C.G. and G.S. NAKAI: Leukemic Cell Proliferation as Determined by in vitro DNA-Synthesis. J. of Clin. Invest. 41, No. 2, 1962

14. FANCONI, G. und A. WALLGREN: Lehrbuch der Pädiatrie. Schwabe & Co Verlag - Basel/Stuttgart 1963

15. FIESCHI, A.: Semiologie des Knochenmarks. Erg. d. Inn. Med. u. Kinderhkde 59, 396 (1941)

16. FLIEDNER, T.M., E.P. CRONKITE und V.P. BOND: Die Proliferationsdynamik der Blutzellbildung, autoradiographisch untersucht mit tritiummarkiertem Thymidin. Schweiz. Med. Wsch., Nr. 41, 1061, 89. Jg. 1959

17. FLIEDNER, T.M., E.P. CRONKITE, V.P. BOND, J.R. RUBINI and G. ANDREWS: The Mitotic Index of Human Bone Marrow in Healthy Individuals and Irradiated Human Beings. Acta haemat., 22, 65 - 78 (1959)

18. FLIEDNER, T.M., E.P. CRONKITE und V.P. BOND: Das Studium der Proliferationsdynamik der Myelopoese unter Verwendung der Einzelzellautoradiographie. Fol. haemat. N.F. 6, 210 (1961)

19. GAVOSTO, F., G. MARAINI and A. PILERI: Proliferative Capacity of Acute Leukemia Cells. Nature 187, 4737, 611 (1960)

20. GUNZ, F.W. and A.F. BURRY: Cellular Types in Acute Leukemia: Diagnosis and Significance. J. of Clin. Path. 16, 325, 1963

21. HEGGLIN, R.: Differentialdiagnose innerer Krankheiten. Thieme-Verlag Stuttgart, 9. Aufl. (1963)

22. HEILMEYER, L. und H. BEGEMANN: Handb. d. Inn. Medizin - 2. Bd. - Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 4. Aufl., 49 (1951)

23. HEILMEYER, L. und A. HITTMAIR: Handb. d. gesamt. Hämatologie - 1.Bd. - Urban & Schwarzenberg, München - Berlin - Wien 163 (1957)

24. HERTL, M.: Zum Nukleolus-System in hämatologischen Zellen. Fol. haemat. N.F. 8, 414, (1963)

25. KILLMANN, S.-A., E.P. CRONKITE, T.M. FLIEDNER and V.P. BOND: Mitotic Indices of Human Bone Marrow Cells. I. Number and Cytologic Distribution of Mitoses. Blood 19, 6: 743 - 750 (1962)

26. LAJTHA, L.G.: On DNA Labeling in the Study of the Dynamics of Bone Marrow Cell Populations. The Kinetics of Cellular Proliferation, Grune & Stratton, Inc., New York, 1959

27. MAUER, A.M. and V. FISHER: In vivo Study of Cell Kinetics in Acute Leukemia. Nature 197: 574 (1963)

28. MAUER, A.M.: Comparison of the Proliferative Capacity of Acute Leukemia Cells in Bone Marrow and Blood. Nature, Vol. 193, No. 4820, 1085, 1962

29. MAURI, C.: Autoradiographische Untersuchungen über in vitro mit H^3-Thymidin inkubierte Knochenmarkserythroblasten. Wien. Z. Inn. Med., 42: 354 (1961)

30. POGO, B.G.T. and A.E. MOORE: Effect of Folic Acid on in vitro Uptake of Labeled Thymidine by Leukemic Cells. Proc. Soc. for Exp. Biol. Med. 1961, v 1o8, 409 - 412

31. ROHR, K.: Das menschliche Knochenmark. Thieme-Verlag Stuttgart, 3. Aufl., 13 (1960)

32. SALERA, U. et G. TAMBURINO: Etude sur l'activité prolifération des cellules leucémiques. Sang 26 : 216 (1955)

33. SALERA, U. e G. TAMBURINO: Studio dell'attività proliferativa dei granuloblasti. Haematologica 37, 1135 (1953)

34. SCHULZ, R.D.: Mitoseindex und Mitosephasenverteilung im Knochenmark bei akuter Leukämie. Inaugural - Dissertation. Aus der I.Inn.Abt.d.Städt.Krkhs.Neukölln, ärztl.Dir.: Prof. Dr. K. Holldack, Berlin 1963

35. WEICKER, H.: Ein quantitatives Modell der Granulopoese. Schw. Med. Wschr., 86, No. 51/52, 2, (1956)

Frau Prof. Dr. med. Irene Boll möchte ich für die Überlassung des Themas und die vielseitige Förderung bei der Anfertigung dieser Dissertation meinen besonderen Dank sagen.

Studie im Rahmen der Assoziation Haematologie EURATOM-GSF Nr. 031-64-1 BIAD.

Druck: Dissertationsdruckstelle, 1 Berlin 33, Garystr. 45